

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Sven Mahner

**Vergleich der Serumkonzentrationen von Inhibin und Activin vor und nach
adjuvanter Chemotherapie bei Patientinnen mit Mammakarzinom**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Natalie Burkhardt
aus Pforzheim
2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Ioannis Mylonas

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Oliver J. Stoetzer

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Julia Jückstock

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 29.10.2015

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	III
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1 Einleitung.....	1
1.1 Das Mammakarzinom.....	1
1.1.1 Epidemiologie.....	1
1.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren	1
1.1.3 Pathogenese, histologische Klassifikation und Metastasierung	3
1.1.4 Differenzierungsgrad.....	4
1.1.5 TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung	5
1.1.6 Prognose und Prognosekriterien.....	5
1.1.7 Therapie.....	6
1.2 Inhibin und Activin	8
1.2.1 Struktur.....	8
1.2.2 Funktion.....	10
1.2.3 Signaltransduktion und Rezeptoren.....	11
1.2.4 Expression	14
1.2.5 Inhibin, Activin und weibliche endokrine Tumore	15
1.2.6 Inhibin, Activin und Mammakarzinom	16
1.2.7 Inhibin, Activin und Chemotherapie	18
1.3 Ziele und Fragestellungen.....	20
2 Material und Methoden.....	21
2.1 Patientinnenkollektiv und Untersuchungsmaterial	21
2.2 Die SUCCESS A-Studie	21
2.3 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	22
2.3.1 Inhibin-ELISA.....	22
2.3.2 Activin-ELISA	24
2.3.3 Verwendete Materialien	24
2.4 Statistische Auswertung.....	25
3 Ergebnisse.....	26
3.1 Klinisch-pathologische Aspekte des Patientinnenkollektivs	26
3.1.1 Alter bei Erstdiagnose	26
3.1.2 Menopausenstatus.....	26

3.1.3	Amenorrhö.....	26
3.1.4	Histologie	26
3.1.5	Chemotherapie.....	27
3.1.6	Hormonrezeptorstatus und endokrine Therapie	27
3.1.7	Her2/neu-Status und Trastuzumabtherapie	27
3.2	Serumanalyse der Inhibin- und Activinkonzentrationen	28
3.2.1	Inhibin A (im normalen und ultrasensitiven Nachweis).....	29
3.2.2	Inhibin B	38
3.2.3	Activin A	41
3.2.4	Activin B	45
3.2.5	Activin AB.....	46
4	Diskussion	51
4.1	Allgemein.....	51
4.2	Inhibin A	52
4.2.1	Allgemein	52
4.2.2	Inhibin A, Chemotherapie und Trastuzumab	53
4.2.3	Inhibin A, Patientinnenalter, Menopausenstatus und Amenorrhö.....	54
4.2.4	Inhibin A als Tumormarker und prognostischer Marker beim Mammakarzinom.....	55
4.3	Inhibin B	56
4.3.1	Allgemein	56
4.3.2	Inhibin B, Patientinnenalter, Menopausenstatus und ovarielle Reserve	57
4.4	Activin A.....	58
4.4.1	Allgemein	58
4.4.2	Activin A und Chemotherapie	58
4.4.3	Activin A, Menopausenstatus und Amenorrhö	59
4.4.4	Activin A, Her2/neu-Status und Trastuzumab	59
4.4.5	Activin A als prognostischer Marker beim Mammakarzinom	60
4.5	Activin B.....	62
4.5.1	Allgemein	62
4.5.2	Activin B, Chemotherapie und Endokrinologie	62
4.5.3	Activin B als prognostischer Marker beim Mammakarzinom	62
4.6	Activin AB	63
4.6.1	Allgemein	63

4.6.2	Activin AB und Chemotherapie	63
4.6.3	Activin AB, Amenorrhö und Menopausenstatus.....	64
4.6.4	Activin AB und Her2/neu-Status.....	64
5	Zusammenfassung.....	66
6	Literaturverzeichnis	69
7	Anhang.....	82
7.1	Tabellen zum Mammakarzinom	82
7.2	SUCCESS A-Studie [168]	84
7.2.1	Einschlusskriterien	84
7.2.2	Ausschlusskriterien.....	85
7.2.3	Studiendesign der SUCCESS A-Studie.....	86
7.3	Verwendete Materialien.....	87
7.4	Nicht-signifikante Ergebnisse	88
7.4.1	Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin A	88
7.4.2	Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A)	90
7.4.3	Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin B	92
7.4.4	Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin A.....	94
7.4.5	Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin B.....	96
7.4.6	Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin AB	98
	Vorabpublikationen	100
	Danksagung und Widmung.....	101
	Eidesstattliche Versicherung.....	102

Abkürzungsverzeichnis

ActRII/II.....	TGF-beta-TypII-Rezeptor
ALK4.....	Activin like kinase 4
AMH.....	Anti-müllerian hormone
BG	Betaglycan
BET	Brusterhaltende Therapie
BMPs.....	Bone morphogenic proteins
BRCA	Breast-Cancer-Gen
CA 125	Cancer-Antigen 125
CLIS	Carcinoma lobulare in situ
CRA	Chemotherapy-related amenorrhea (dt. chemotherapiebedingte Amenorrhö)
DNA	Deoxyribonucleic acid (dt. Desoxyribonukleinsäure)
DOC	Docetaxel
DG	Gemcitabin-Docetaxel
DCIS.....	Duktales Carcinoma in situ
ECOG.....	Eastern Cooperative Oncology Group
EGF	Epidermal growth factor
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
ER.....	Östrogenrezeptoren
FAC	5-Fluorouracil + Doxorubicin + Cyclophosphamid
FAST	Forkhead activin signal transducer
FEC.....	5-Fluorouracil + Epirubicin + Cyclophosphamid
FEC-DOC.....	5-Fluorouracil + Epirubicin + Cyclophosphamid anschließend Docetaxel
FEC-DG	5-Fluorouracil + Epirubicin + Cyclophosphamid anschließend Docetaxel + Gemcitabin
FoxH.....	Forkhead box H

FS	Follistatin
FSH.....	Follikel stimulierendes Hormon
GDFs	Growth and differentiation factors
GnRH	Humanes Gonadotropin Releasing Hormone
GOT.....	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Her2/neu	Human epidermal growth factor receptor 2
HRP	Horseradish peroxidase
HRT.....	Hormone replacement therapy (dt. Hormonersatztherapie)
IDC	Invasiv duktales Karzinom
IDC/LN.....	Invasiv duktales Karzinom mit Lymphknotenmetastasen
IGF-1	Insuline like growth factor 1
INH- α	Inhibin alpha Untereinheit
INH- β A	Inhibin beta A Untereinheit
INH- β B.....	Inhibin beta B Untereinheit
InhBP.....	Inhibin binding proteine
IRS	Immunreaktiver Score
i.v.....	Intravenös
KOF.....	Körperoberfläche
LCIS	Lobuläres Carcinoma in situ
LH.....	Luteinisierendes Hormon
Lk	Lymphknoten
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
m ²	Quadratmeter
mg.....	Milligramm
mRNA	Messenger Ribonucleic acid (dt. Ribonukleinsäure)

nm.....	Nanometer
NYHA	New York Heart Association
NST	No specific type
PgR	Progesteronrezeptoren
POF.....	Premature ovarian failure
q6m.....	Alle sechs Monate
q3w	Alle drei Wochen
RKI.....	Robert Koch Institut
RNA	Ribonucleic acid (dt. Ribonukleinsäure)
SARA	Smad anchor for receptor activation
SERM.....	Selektive Östrogenrezeptor-Modulatoren
Smads	Sons of mothers against decapentaplegia
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TAC.....	Docetaxel + Doxorubicin + Cyclophosphamid
TF	Transkriptionsfaktoren
TGF- β	Transforming growth factor beta family
TMB	Tetramethylbenzidin
UICC	Union internationale contre le cancer
UpM	Umdrehungen pro Minute
US	Ultrasensitiv
US Inhibin A	Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis
WHO	World Health Organization
μ l.....	Mikroliter
Z.n.	Zustand nach

1 Einleitung

1.1 Das Mammakarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Das Mammakarzinom ist weltweit der häufigste bösartige Tumor der Frau. Über eine Million Frauen weltweit erkranken pro Jahr an einem Mammakarzinom, fast eine halbe Million sterben daran [1].

In Deutschland ist das Mammakarzinom mit einem Anteil von ca. 30% aller Krebsneuerkrankungen für die meisten bösartigen Neuerkrankungen der Frau verantwortlich. Etwa eine von acht Frauen erkrankt im Laufe ihres Lebens daran. Für das Jahr 2010 wurden vom Robert Koch Institut rund 70.340 Neuerkrankungen und 17.466 Sterbefälle beschrieben [1, 2].

Die Wahrscheinlichkeit an Brustkrebs zu erkranken steigt mit zunehmendem Lebensalter kontinuierlich an. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 64 Jahren, allerdings ist etwa jede vierte betroffene Frau bei Diagnosestellung jünger als 55 Jahre, jede zehnte ist unter 45 Jahre alt [2]. Durch das steigende Gesundheitsbewusstsein und den zunehmenden Einsatz von Mammographie und Mammasonographie wurde die Diagnosestellung des Mammakarzinoms in den vergangenen Jahren in ein jüngeres Alter vorverlagert [3-6].

Die Brustkrebsinzidenz ist in Deutschland seit 1990 stetig angestiegen [7], dies liegt jedoch vermutlich weniger an der tatsächlichen Anzahl der Neuerkrankungen, sondern vor allem an den verbesserten Diagnose- und Früherkennungsmöglichkeiten sowie der vollständigeren Erfassung. Die Mortalität nimmt hingegen kontinuierlich ab, was durch die Fortschritte und Verbesserung der Therapie zu erklären ist [1, 2, 7]. Sie liegt bei 41,9 Frauen pro 100.000 Frauen und Jahr für 2010. Die absolute 5-Jahres-Überlebensrate beträgt 79% [2].

1.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Die genaue Ätiologie des Mammakarzinoms ist unbekannt. Es scheinen jedoch etliche endogene wie auch exogene Faktoren eine Rolle in der Pathogenese zu spielen. Zu den endogenen Risikofaktoren zählen zunehmendes Lebensalter, ein vorangegangenes Mammakarzinom, familiäre Belastung und genetische Prädisposition sowie endokrine und reproduktive Faktoren [1, 8].

Exogene Faktoren, die das Brustkrebsrisiko erhöhen können, sind vor allem Umwelt- und Lebensbedingungen. Ionisierende Strahlung und Ernährungsfaktoren stellen die wichtigsten exogenen Faktoren dar.

Die wichtigsten Risikofaktoren werden im Folgenden genauer erläutert.

1.1.2.1 Endogene Faktoren

- **Zunehmendes Lebensalter:** Die Altersverteilung der Brustkrebserkrankungen zeigt, dass das Brustkrebsrisiko mit zunehmendem Lebensalter kontinuierlich steigt. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 64 Jahren. Die meisten Frauen sind bei Diagnosestellung 65 bis 69 Jahre alt [1].
- **Genetische Prädisposition:** In etwa 15-20% der Brustkrebsfälle handelt es sich um erblich familiäre Erkrankungen [1]. Frauen, deren weibliche Verwandte ersten Grades an einem Mammakarzinom erkrankt sind, haben ein 2- bis 3-fach erhöhtes Brustkrebsrisiko. Bei prämenopausalem und besonders frühzeitigem Auftreten, unter 45 Jahren Lebensalter, sowie bilateralem Befall oder Erkrankung mehrerer Verwandter steigt das familiäre Risiko auf bis zu 50% Lebenszeitrisiko stark an [9-11]. Die größte Wahrscheinlichkeit an einer erblichen Form von Brustkrebs zu erkranken, besteht bei Frauen mit einer Mutation der Tumorsuppressorgene BRCA1 und BRCA2 [12, 13]. Diese spielen eine wichtige Rolle in der DNA-Reparatur [1]. Bei Trägerinnen der BRCA1-Mutation liegt das Lebenszeitrisiko an Brustkrebs zu erkranken bei bis zu 80%. Das mittlere Erkrankungsalter liegt hier bei Mitte bis Ende Vierzig [14-16]. Eine BRCA2-Mutation führt zu einer ca. 60-70%-igen Wahrscheinlichkeit an Brustkrebs zu erkranken, dabei liegt das Erkrankungsalter höher als bei der BRCA1-Mutation [1, 15, 17]. Es gibt noch weitere Gene, deren Veränderung zu einer genetischen Brustkrebserkrankung führen kann, wie das TP53-Gen beim Li-Fraumeni-Syndrom oder das PTEN-Gen im Rahmen des Cowden-Syndroms. Diese machen jedoch nur einen sehr geringen Anteil der Mammakarzinome aus [1, 18].
- **Endokrine Faktoren:** Eine frühe Menarche vor dem 12. Lebensjahr sowie eine späte Menopause nach dem 55. Lebensjahr erhöhen das Brustkrebsrisiko um den Faktor 1 bis 2 [19-22]. Somit scheint die Gesamtdauer der Östrogenexposition von besonderer Relevanz zu sein.

Eine peri- und postmenopausale Hormonsubstitution (HRT) erhöht das Risiko für ein Mammakarzinom um bis zu 35% ab einer Einnahmedauer von mindestens fünf Jahren [8, 20, 23-25].

Auch orale, hormonelle Kontrazeptiva scheinen die Wahrscheinlichkeit, an Brustkrebs zu erkranken, leicht anzuheben. Insbesondere bei einer Einnahme vor dem 20. Lebensjahr. Dieses Risiko ist fünf bis zehn Jahre nach Therapieende nicht mehr nachweisbar [26, 27].

- **Reproduktive Faktoren:** Eine Erstschwangerschaft nach dem 30. Lebensjahr sowie Nulliparität heben die Brustkrebswahrscheinlichkeit ebenfalls an [19, 28].

Im Gegensatz dazu senken eine ausgetragene Erstschwangerschaft vor dem 30. Lebensjahr und langes Stillen das Brustkrebsrisiko und werden demzufolge als protektive Faktoren angesehen [29-31].

1.1.2.2 Exogene Faktoren

- **Ionisierende Strahlung:** Zu den Umweltfaktoren, die das Brustkrebsrisiko potentiell erhöhen, gehört die ionisierende Strahlung, wie sie zum Beispiel bei der Mammographie angewendet wird [32]. Allerdings überwiegen die Vorteile des Mammographiescreenings ab 50 Jahren eindeutig gegenüber der geringen Risikoerhöhung dadurch [33].
- **Ernährungsgewohnheiten:** Die Inzidenz- und Mortalitätsraten des Mammakarzinoms sind in Nordamerika und Nordeuropa am höchsten, in asiatischen und afrikanischen Ländern hingegen am niedrigsten. Hierbei kommt vermutlich den Ernährungsgewohnheiten eine relevante Bedeutung zu. Die „westlichen“ Essgewohnheiten (high carbohydrate diet) und deren Folgen wie Hyperalimentation, Adipositas und Hyperinsulinämie scheinen ein gewisses Risiko darzustellen [34].

Auch fett- und fleischreiche Ernährung scheinen die Entwicklung eines Mammakarzinoms eher zu fördern als fettarme, pflanzliche Kost [8, 35, 36]. Alkoholkonsum und Rauchen erhöhen ebenfalls das Risiko für ein Mammakarzinom [37, 38], während körperliche Aktivität das Risiko senkt [39].

1.1.3 Pathogenese, histologische Klassifikation und Metastasierung

Die Pathogenese des Mammakarzinoms verläuft meist über intraepitheliale Vorstadien. Diese können sich nach vermutlich mehrjähriger Latenz zu einem infiltrierenden Karzinom entwickeln.

Die Frühform beziehungsweise nicht-invasive Form des Mammakarzinoms stellt das *Carcinoma in situ* dar. Es durchbricht die Basallamina nicht [19].

Beim Mammakarzinom handelt es sich in den meisten Fällen (40 bis 75%) um ein Adenokarzinom, das vom Epithel der Ductus oder der terminalen Ductuli ausgeht. Solange sich der Tumor innerhalb der anatomischen Grenzen der Milchgänge befindet und die Basalmembran nicht durchbricht, wird er als duktales Carcinoma in situ (DCIS) oder auch intraduktales Karzinom beziehungsweise duktales intraepitheliale Neoplasie bezeichnet. Es ist als fakultative Präkanzerose anzusehen [40]. Bei Infiltration des umliegenden Gewebes handelt es sich um ein invasives Karzinom „no specific type (NST)“ (früher: invasiv duktales Karzinom (IDC)) [1]. In ca. 5 bis 15% der Fälle entsteht der Tumor aus dem Epithel der Brustdrüsenlobuli und wird beim Befall eines einzelnen Läppchens als lobuläres Carcinoma in situ (LCIS) bezeichnet. Die infiltrierende Form ist entsprechend das invasiv lobuläre Karzinom [1]. Die invasiven Karzinome wurden von der World Health Organization (WHO) in viele, weitere Unterformen klassifiziert (**Tabelle 1, Seite 82**) [41].

85 bis 95% der Mammakarzinome sind invasiv, ca. 5 bis 15% sind nicht-invasive Karzinome wie DCIS und CLIS. Der Morbus Paget der Brustwarze nimmt eine Sonderstellung ein. Es handelt sich hierbei um eine in der Regel nichtinvasive Tumorzellausbreitung eines intraduktalen Karzinoms bis in die Epidermis der Mamille [1, 19].

Das Mammakarzinom metastasiert lymphogen in die axillären Lymphknoten. Die hämatogene Metastasierung erfolgt bevorzugt ins Skelettsystem, Lunge und Pleura, Leber und Gehirn und selten ins Ovar [19, 42].

1.1.4 Differenzierungsgrad

Die Tumorzellen der invasiven Karzinome können anhand unterschiedlicher mikroskopischer und pathologischer Kriterien wie struktureller und zellulärer Eigenschaften in drei Differenzierungsgrade beziehungsweise Malignitätsgrade eingeteilt werden (histologisches Grading). Zu beurteilen sind dabei die tubuläre Differenzierung, die Zellkernpolymorphie (Gestalt und Größe der Zellkerne) sowie die Mitoserate.

Je höher das Grading, desto aggressiver und ungünstiger wird das Tumorverhalten eingeschätzt. Man unterscheidet Differenzierungsgrad 1: G1 (gut differenziert), Differenzierungsgrad 2: G2 (mäßig differenziert) und Differenzierungsgrad 3: G3 (gering differenziert) [19, 43, 44].

1.1.5 TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung

Die TNM-Klassifikation beschreibt die Ausdehnung des Primärtumors (T), die Anzahl der befallenen Lymphknoten (N) und eine eventuelle Fernmetastasierung (M). Die pTNM-Klassifikation erfolgt am Operationspräparat anhand von pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunden. Die TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung des Mammakarzinoms findet sich im Anhang (**Tabelle 2 und 3, Seite 83-84**). Der Resektionsstatus R ist ebenfalls von entscheidender Bedeutung und beschreibt ob der Tumor im Gesunden (R0) reseziert wurde oder ob ein mikroskopischer (R1) oder makroskopischer (R2) Residualtumor besteht [1, 45].

1.1.6 Prognose und Prognosekriterien

Die absolute 5-Jahres-Überlebensrate des Mammakarzinoms liegt bei 79% [2]. Die Prognose hängt von mehreren Faktoren wie Patientinnenalter, Menopausenstatus und vor allem den Eigenschaften des Tumors ab [46]. Noch vor wenigen Jahren wurde hauptsächlich die TNM-Klassifikation zur Einschätzung herangezogen, wobei insbesondere der axilläre Lymphknotenstatus als einer der wichtigsten Prognosemarker betrachtet wurde [47]. Mittlerweile ist jedoch die Bedeutung der Tumorbilogie für den weiteren Verlauf der Erkrankung sowie die Indikation und das Ansprechen der verschiedenen Systemtherapien in den Vordergrund gerückt. Hierfür werden insbesondere molekularbiologische Faktoren wie der Hormonrezeptorstatus, der Her2/neu-Status (Human epidermal growth factor receptor 2) sowie das Grading berücksichtigt [1, 48]. Die Hormonrezeptoren Östrogenrezeptor (ER) und Progesteronrezeptor (PgR) sind am Zellkern lokalisierte Proteine, die Östrogen beziehungsweise Progesteron binden und das Wachstum von Brustepithelzellen wie auch von Mammakarzinomzellen regulieren können. Um den Hormonrezeptorstatus zu bestimmen, wird das Tumorgewebe immunhistochemisch untersucht und ein Score, der sogenannte immunreaktive Score (IRS), als Produkt aus Färbeintensität und Prozentsatz positiver Zellen berechnet. Hormonrezeptorpositiv sind Mammakarzinome mit mindestens 1% ER- oder PgR-positiver Tumorzellkerne [1, 49-53]. Patientinnen mit hormonrezeptorpositiven Tumoren haben eine höhere Überlebensrate und ein längeres krankheitsfreies Intervall und somit insgesamt eine bessere Prognose [8]. Hormonrezeptorpositive Tumore sprechen außerdem besser auf die endokrine Brustkrebstherapie an [54-57]. Die Bestimmung des humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors-2 (Her2/neu) ist mittlerweile Routinestandard beim Mammakarzinom.

Patientinnen mit Her2/neu-positiven Tumoren scheinen eine schlechtere Prognose zu haben [58]. Zudem ist der Her2/neu-Status ein prädiktiver Parameter für das Ansprechen auf die Antikörpertherapie mit Trastuzumab (Herceptin®) [1, 59, 60].

Zu den neueren Prognosefaktoren gehören Proliferationsrate und Ploidiegrad der Karzinomzellen, Genexpressionsanalysen, Tumorzellnachweis im Knochenmark, verschiedene Onkogene, serologische Tumormarker wie auch Tumorsuppressorgene, zu denen unter anderem die Wachstumshormone der TGF-beta-Familie gezählt werden [61]. Diese sind Gegenstand der aktuellen Forschung und noch nicht in der klinischen Routine etabliert [1].

1.1.7 Therapie

Die Therapie des Mammakarzinoms ist gemäß der internationalen Konsensuskonferenz (St. Gallen 2013) eine Kombinationstherapie aus Operation und adjuvanter Therapie [62, 63]. Die adjuvante Therapie besteht aus der postoperativen, lokalen Bestrahlung (Radiatio) und der adjuvanten Systemtherapie mit Hormonen (endokriner Therapie), Zytostatika (Chemotherapie) sowie monoklonalen Antikörpern. Sie schließt sich an die operative Tumoresektion an mit dem Ziel, eventuelle Mikrometastasen und im Körper verbliebene Tumorzellen zu eliminieren. Abhängig vom klinischen Untersuchungsbefund, der bildgebenden Diagnostik, vom histopathologischen Befund, von der Brust-Tumor-Relation und dem Patientinnenwunsch wird die Therapie des Mammakarzinoms individualisiert und angepasst [1].

- **Operative Therapie:** Zunächst erfolgt bei geeignetem Brust-Tumor-Verhältnis die chirurgische Exzision des Primärtumors als Therapie der Wahl. Lange Zeit wurde die klassische radikale Mastektomie nach Halstedt und Rotter als Standardtherapie der operablen Mammakarzinome betrachtet, bei der der Musculus pectoralis und das axilläre Lymphabflussgebiet mitentfernt wurden. Mittlerweile hat sich die brusterhaltende Therapie (BET) als Standardmethode etabliert.

Da der Lymphknotenstatus nach wie vor ein wichtiger Prognoseparameter ist, gehörte zunächst die axilläre Lymphonodektomie obligat zum therapeutischen Konzept. Durch die Detektion, Entfernung und Schnellschnittuntersuchung des sogenannten Sentinel-Lymphknotens (Wächterlymphknoten), dem ersten den Tumor drainierenden Lymphknoten, der die axilläre Metastasierung repräsentieren soll, kann bei gegebenenfalls negativem Befund die radikale Axillaresektion vermieden werden. Ziel der chirurgischen Therapie ist die komplette Entfernung des Primärtumors und der regionären Lymphknoten [1, 19, 64, 65].

- **Radiatio:** Nach der operativen Tumoresektion erfolgt die postoperative Bestrahlung mit dem Ziel der lokalen Tumorkontrolle. Sie vermag das Lokalrezidivrisiko von 30% auf unter 5% deutlich zu senken und erhöht die Überlebensrate durch Vermeidung von sekundären Fernmetastasen hervorgehend aus lokoregionären Rezidiven [66, 67].
- **Adjuvante Systemtherapie:** Die adjuvante Systemtherapie, also Hormon-, Chemo- und Antikörpertherapie, hat sich mittlerweile zu einem unverzichtbaren Bestandteil in der Therapie des Mammakarzinoms entwickelt. Ihre Wirksamkeit, in Hinsicht auf die Reduzierung des Rezidivrisikos und die Verringerung der Sterblichkeit, wurde in vielen randomisierten Studien untersucht und immer wieder bestätigt [68]. Es besteht praktisch für jede Frau mit einem primären, nicht metastasierten, invasiven Mammakarzinom die Indikation für eine adjuvante, systemische Therapie in kurativer Absicht [1]. Prinzip der endokrinen Therapie ist der Östrogenentzug. Eine adjuvante, endokrine Therapie ist grundsätzlich bei hormonrezeptorpositiven Tumoren indiziert. Tamoxifen gehört zu den selektiven Östrogenrezeptor-Modulatoren (SERM) und ist nach wie vor die Standardsubstanz der endokrinen Therapie. Alternativ oder ergänzend werden bei postmenopausalen Frauen Aromatasehemmer wie beispielsweise Anastrozol (Arimidex®) eingesetzt, die die Synthese der Östrogene im peripheren Gewebe hemmen [62, 69]. Die Einführung synthetischer GnRH-Analoga (humanes Gonadotropin Releasing Hormon) zur Suppression der ovariellen Östrogensynthese bei prämenopausalen Frauen hat die operative Ovarablation in den Hintergrund gedrängt. Ein Beispiel hierfür ist Goserelin (Zoladex®) [1].

Die adjuvante Chemotherapie wird abhängig von Zustand und Alter der Patientin, der Tumorklassifikation (Lymphknoten- und Rezeptorstatus sowie Grading) und vor allem der Risikoeinteilung nach St. Gallen (Internationale Konsensuskonferenz, St. Gallen 2013) nach verschiedenen Chemotherapieprotokollen verabreicht. Zu den Schemata der ersten Wahl zählen beispielsweise die Anthrazyklin (Epirubicin)- und Taxan (Docetaxel)-haltigen Kombinationen FEC-DOC (5-Fluorouracil + Epirubicin + Cyclophosphamid danach Docetaxel) und TAC (Docetaxel + Doxorubicin + Cyclophosphamid) [1, 64, 68, 70]. Eine von vielen möglichen Nebenwirkungen der Chemotherapie ist die Amenorrhö beziehungsweise Sterilität bedingt durch die Gonadotoxizität der Chemotherapeutika [64, 71]. Bei jungen Frauen, insbesondere mit nicht abgeschlossener Familienplanung, müssen die chemotherapiebedingten Auswirkungen auf die Ovarialfunktion, sprich passagere oder permanente Ovarialinsuffizienz, berücksichtigt und besprochen werden [72].

GnRH-Analoga scheinen außer ihrer oben beschriebenen östrogensuppressiven Wirkung einen protektiven Effekt auf die Ovarialfunktion im Rahmen der Chemotherapie auszuüben [73-76]. Aufgrund der uneinheitlichen Studienlage werden sie jedoch nicht standardmäßig empfohlen [77].

Patientinnen, die eine Überexpression des humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors-2 (Her2/neu) aufweisen, erhalten zusätzlich Trastuzumab (Herceptin®), einen monoklonalen Antikörper gegen die extrazelluläre Domäne des Her2/neu-Proteins [1, 19, 64].

Der adjuvante Einsatz von Bisphosphonaten zur Prävention von ossären Metastasen ist momentan noch Diskussionsstoff in vielen Studien und wird noch nicht standardmäßig eingesetzt [1, 78-80].

1.2 Inhibin und Activin

1.2.1 Struktur

Inhibine sind heterodimere Glykoproteine, die aus einer alpha-Untereinheit (INH- α) und einer von zwei möglichen beta-Untereinheiten (INH- β A oder - β B) bestehen. Sie wurden ursprünglich aus den Gonaden isoliert und als Modulatoren der FSH-Sekretion (Follikel stimulierendes Hormon) aus der Hypophyse identifiziert [81, 82]. Es existieren zwei verschiedene Inhibinformen und zwar Inhibin A und Inhibin B. Sie haben eine identische α -Untereinheit, die β -Untereinheit charakterisiert Inhibin A ($\alpha + \beta$ A) und dementsprechend Inhibin B ($\alpha + \beta$ B) (**Abbildung 1, Seite 9**). Sowohl Inhibin A als auch Inhibin B supprimieren gezielt die FSH-Sekretion aus der Hypophyse [83].

Activine setzen sich lediglich aus beta-Untereinheiten zusammen. Die Untereinheiten sind über Disulfidbrücken verbunden [84]. Sie sind entweder Homodimere aus zwei gleichen INH- β -Untereinheiten wie Activin A (β A + β A) und Activin B (β B + β B) oder Heterodimere aus zwei unterschiedlichen INH- β -Untereinheiten wie Activin AB (β A + β B) (**Abbildung 1, Seite 9**). Activine stimulieren die FSH-Sekretion aus der Hypophyse [85].

Es ist nicht genau bekannt, warum es in Zellen, die beide Untereinheiten produzieren, eher zur $\alpha\beta$ -Formation (Inhibin) oder zur $\beta\beta$ -Formation (Activin) kommt. Die entsprechende Expression der Untereinheiten dient wahrscheinlich als regulierender Mechanismus, indem ein Übermaß an INH- α -Untereinheiten die Produktion zum Inhibin hin verschiebt. Die biochemische Ähnlichkeit von Inhibin und Activin setzt ein System voraus, in welchem die Zelle die Produktion von zwei gegensätzlich wirkenden Faktoren schnell alternieren kann und können muss [20, 86].

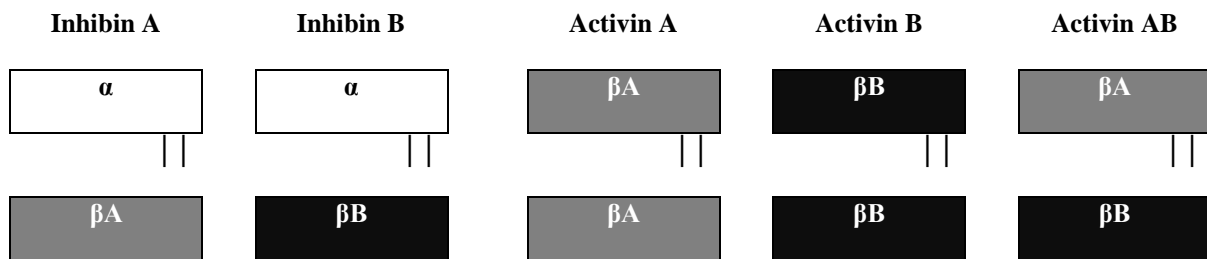
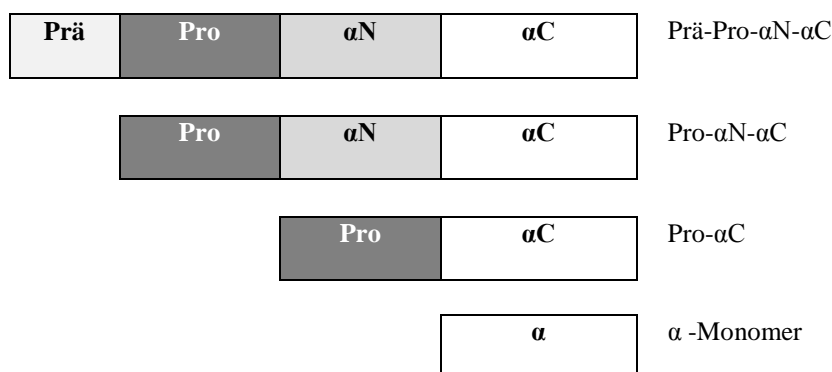


Abbildung 1. Schematische Darstellung der Inhibin- und Activin-Dimere.

Inhibine bestehen aus einer alpha (α)- und einer beta (β)-Untereinheit. Die INH- β -Untereinheit charakterisiert die Inhibinform. Inhibin A besteht aus einer α - und einer βA -Untereinheit, Inhibin B aus einer α - und einer βB -Untereinheit. Activine bestehen entweder aus zwei gleichen beta (β)-Untereinheiten wie Activin A aus zwei βA -Untereinheiten oder Activin B aus zwei βB -Untereinheiten oder aber aus zwei unterschiedlichen INH- β -Untereinheiten wie es bei Activin AB der Fall ist ($\beta A + \beta B$). Die Untereinheiten sind über Disulfidbrücken miteinander verbunden.

Modifikationen der INH- α -Untereinheit



Modifikationen der INH- β -Untereinheit

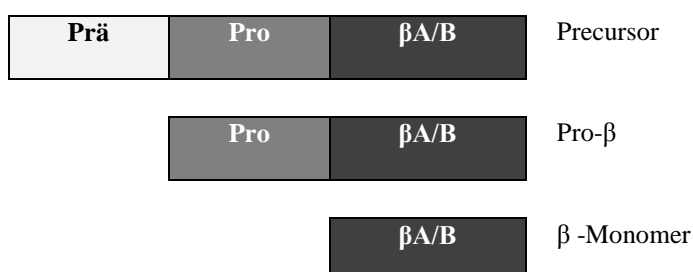


Abbildung 2. Schematische Darstellung der Vorläuferproteine der Inhibinuntereinheiten.

Die INH- α - und - β -Untereinheiten werden als Vorläuferproteine produziert und durch proteolytische Spaltung in reife Proteine umgewandelt.

Sowohl die INH- α - als auch die INH- β -Untereinheiten werden als Vorläuferproteine synthetisiert. Das INH- α -Vorläuferprotein besteht aus drei verschiedenen Regionen, nämlich Pro, α N und α C. Die β -Untereinheit besteht aus zwei Regionen Pro- β und β , entsprechend die β A-Untereinheit aus Pro- β A und β A und die β B-Untereinheit aus Pro- β B und β B. Sie werden durch proteolytische Spaltung, die sowohl intrazellulär als auch im Serum stattfindet, in reife Proteine umgewandelt (**Abbildung 2, Seite 9**) [87].

Es konnten einige weitere INH- β -Untereinheiten identifiziert werden, wie INH- β C, INH- β D und INH- β E. Sie können sich über Disulfidbrücken zu Activin C, Activin D beziehungsweise Activin E dimerisieren, haben jedoch keine Wirkung auf die FSH-Sekretion [88, 89]. Ihre genaue Funktion ist unklar. INH- β C kann mit INH- β A (Activin AC) und INH- β B (Activin BC) Heterodimere bilden, nicht aber mit der INH- α -Untereinheit [90].

Ein weiteres Protein konnte identifiziert werden, welches strukturell zwar nicht mit Inhibin und Activin verwandt ist, aber eine funktionelle Rolle bei deren Regulation spielt: Follistatin (FS) ist ein monomeres Glykoprotein, das sowohl im ovariellen Follikel als auch in anderen Geweben gebildet wird und das Inhibin-Activin-System reguliert, indem es die Activinwirkung hemmt [83, 91].

1.2.2 Funktion

Die Inhibin- und Activinuntereinheiten gehören zur Transforming-growth-factor-beta (TGF- β)-Proteinfamilie und haben verschiedene Funktionen als Modulatoren der FSH-Synthese und Sekretion sowie der Zellproliferation und -differenzierung [92]. Inhibin, Activin und Follistatin werden von den Granulosazellen des Ovars in Abhängigkeit von FSH produziert und in die follikuläre Flüssigkeit sowie in den ovariellen, venösen Abfluss sezerniert [20, 93-95]. Die Expression dieser Proteine ist jedoch nicht auf das Ovar begrenzt. Sie sind in vielen, verschiedenen Geweben des Körpers vorhanden, wo sie neben endokrinen auch auto- und parakrine Funktionen ausüben. Inhibin wurde erstmals aus der von Granulosazellen produzierten, gonadalen Flüssigkeit im Primärfollikel des Ovars isoliert und als Inhibitor der FSH-Synthese und -Sekretion aus dem Hypophysenvorderlappen identifiziert [83, 96-98]. Es hemmt die FSH-Freisetzung ohne Einfluss auf LH (Luteinisierendes Hormon) [83, 99]. Dabei stimuliert FSH die Sekretion von Inhibin aus den Granulosazellen der ovariellen Follikel und Inhibin supprimiert im Rahmen eines negativen Feedbackmechanismus daraufhin die FSH-Ausschüttung [100].

Die Inhibinsekretion wird weiterhin von verschiedenen autokrinen und parakrinen Kontrollmechanismen reguliert. GnRH (Gonadotropin-Releasing-Hormon) und EGF (Epidermal growth factor) reduzieren die FSH-stimulierte Inhibinsekretion, wohingegen IGF-1 (Insuline like growth factor 1) die Inhibinproduktion verstärkt [8].

Activin stimuliert die FSH-Freisetzung in der Hypophyse und ist somit Antagonist des Inhibins [85]. Es verstärkt außerdem die FSH-Wirkungen im ovariellen Follikel, indem es die FSH-Bindung an die Granulosazellen durch Expression weiterer FSH-Rezeptoren erhöht und somit die Aromataseaktivität durch FSH positiv beeinflusst [36, 95]. Letztendlich wird dadurch auch die Inhibinproduktion erhöht [36, 95]. Activin hat weiterhin auch noch viele weitere reproduktive und nicht-reproduktive Effekte. Es spielt in zahlreichen Geweben eine Rolle, zum Beispiel bei der Regulierung der Zellproliferation und der Zelldifferenzierung, bei der Apoptose, bei der Immunantwort, bei der Wundheilung, bei der Erythropoese im Knochenmark, bei der Mesoderminduktion in der Embryogenese und wie bereits beschrieben bei der Follikulogenese und Granulosazelldifferenzierung im Ovar [36, 101, 102].

Follistatin hemmt die Activin-Wirkung und vermindert dadurch die FSH-Aktivität. Es entwickelt seine parakrine Funktion durch reversible Bindung an Activin und trägt somit zur FSH-Suppression bei [91, 103].

Die TGF- β -Proteinfamilie scheint auch bei der Karzinogenese verschiedener Gewebe eine Rolle zu spielen. Zum einen wurden ihre Proteine als Tumorsuppressoren in prämaligen Stadien der Tumorgenese identifiziert, zum anderen spielen sie eine Rolle als Proto-Onkogen bei der Metastasierung in späteren Stadien einer malignen Erkrankung [104].

1.2.3 Signaltransduktion und Rezeptoren

Die TGF- β -Familie beinhaltet neben den Inhibinuntereinheiten INH- α , INH- β A und INH- β B weitere Proteine wie Bone morphogenic proteins (BMPs), Anti-müllerian hormone (AMH), Myostatin und sogenannte „growth und differentiation factors“ (GDFs) [92]. Es handelt sich hierbei um Zytokine, die Ähnlichkeiten in ihrer Primärsequenz aufweisen. Sie übertragen ihre Signale über dimere Rezeptorkomplexe. Jeder Ligand bindet dabei an den für ihn spezifischen Zelloberflächenrezeptor. Für Activin ist der Mechanismus der Signaltransduktion relativ genau bekannt (**Abbildung 3, Seite 13**).

Zunächst bindet Activin mit hoher Affinität an den TGF- β -Typ II-Rezeptor (ActRII/II) der Zielzelle, was zur Phosphorylierung und Aktivierung des Typ I-Rezeptors, auch Activin like kinase 4 (ALK4) genannt, führt. Dadurch entsteht ein Komplex zwischen den Rezeptoren (Activin-Typ I- Typ II-Rezeptorkomplex) [105]. Dieser Komplex führt ebenfalls über Phosphorylierung zur Aktivierung eines Secondmessengersystems. Bei den intrazellulären Mediatoren dieses Systems handelt es sich um sogenannte Smads (sons of mothers against decapentaplegia) [106]. Die Interaktion zwischen den Smad-Proteinen und dem Rezeptorkomplex erfordert ein membrangebundenes Protein, welches SARA (Smad anchor for receptor activation) genannt wird [107]. Der aktivierte Rezeptorkomplex interagiert durch Phosphorylierung mit Smad 2 und Smad 3, zwei der zytoplasmatischen Smad-Proteine, welche daraufhin einen Komplex mit Co-Smad (Smad 4) bilden. Dieser Komplex wird vom Zytoplasma in den Nukleus der Zelle transferiert, wo er mit Hilfe von DNA-bindenden aktivierenden Faktoren, genannt FAST (forkhead activin signal transducer) oder FoxH (forkhead box H), an die Promotorregion der Zielgene bindet und die Genexpression moduliert [106, 108-110]. Smad 2 und 3 gehören dabei zu den aktivierenden second messengern. Es gibt aber auch inhibitorische Smads wie beispielsweise Smad 6 und 7, die die Wirkung des ALK4 blockieren können [111].

Im Gegensatz zu Activin ist der Signalweg für Inhibin weitaus weniger bekannt. Es wurde bereits vorgeschlagen, dass Inhibin über einen spezifischen Rezeptor wirkt, ein entsprechender Rezeptor konnte jedoch bisher nicht identifiziert werden [91, 112]. Alternativ könnte Inhibin als Antagonist am Activinrezeptor (ActRII/II) agieren, beispielsweise durch Verdrängung des Activins vom Rezeptor [113]. Die Bindung von Inhibin an den Activin-Typ II-Rezeptor erfolgt über einen Corezeptor, der auch Betaglycan oder TGF- β -Typ III-Rezeptor genannt wird. Betaglycan bindet Inhibin mit hoher Affinität, fördert somit die Bindung an den ActRII/II und ermöglicht so die antagonistische Wirkung des Inhibins am Activinrezeptor [114]. Des Weiteren wurde ein membrangebundenes, inhibinbindendes Protein in den Zielgeweben des Inhibins identifiziert, welches als p120 oder Inhibin binding proteins (InhBP) bezeichnet wird [115]. InhBP fördert die Wirkung von Inhibin ohne direkt an Inhibin zu binden [116].

Die genaue Signaltransduktion des Inhibins, beziehungsweise ob es seine Wirkung durch einen eigenen Rezeptor, als Antagonist am Activinrezeptor oder durch andere Hilfsmoleküle überträgt, wird jedoch noch immer diskutiert. Matzuk et al. vermuten, dass Inhibin auf zwei verschiedene Wege die Activinwirkung blockiert. Zum einen bindet Inhibin den TGF- β -Typ II-Rezeptor zusammen mit Betaglycan (Typ III-Rezeptor), dadurch ist der Komplex inaktiv und der Activinweg geblockt.

Zum anderen interagiert Inhibin mit p120 und ALK4 beziehungsweise dem Typ I-Rezeptor und bildet einen ternären Komplex, der eine eigene spezifische Signalkaskade auslöst (**Abbildung 3, Seite 13**). Dieser zweite Signalweg könnte die Activinwirkung durch inhibierende Smads 6 und 7 via Antagonisierung der Transkription von activinregulierten Genen hemmen und/oder zur Induktion eigener inhibinregulierter Genexpression führen. Auf diese Weise kann Inhibin schnell und präzise die Activinwirkung antagonisieren und seine eigenen Effekte ausüben [111].

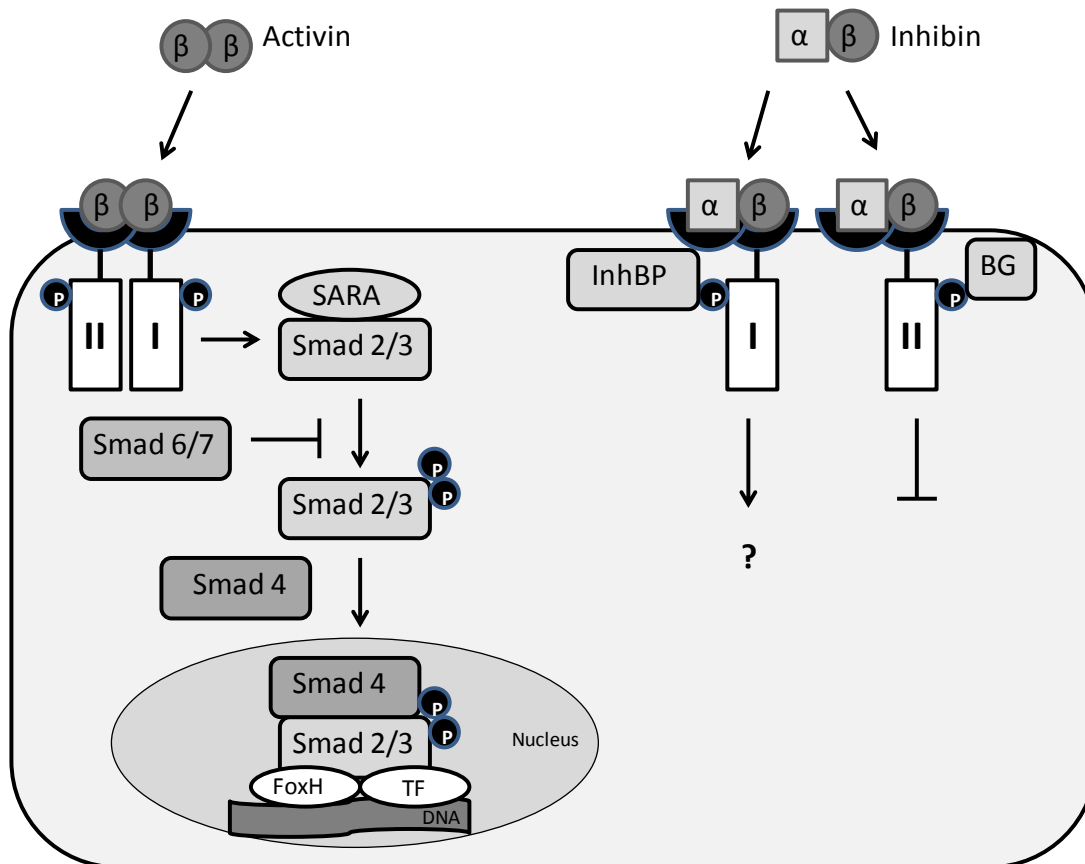


Abbildung 3. Rezeptoren und Signalweg von Activin und Inhibin.

Activin bindet an den TGF-beta-Typ II-Rezeptor (II), welcher über ein zytoplasmatisches Serin-/Threoninkinase-Transduktionssystem zur Phosphorylierung und Aktivierung des Typ I-Rezeptors (I) führt. Dadurch entsteht ein Activin-Typ I-Typ-II-Rezeptorkomplex. Dieser Komplex führt ebenfalls über Phosphorylierung zur Aktivierung eines Secondmessengersystems, bei dessen intrazellulären Mediatoren es sich um sogenannte Smads handelt. Die Interaktion zwischen den Smad-Proteinen und dem Rezeptorkomplex erfordert ein membrangebundenes Protein, welches SARA (Smad anchor for receptor activation) genannt wird. Der aktivierte Rezeptorkomplex interagiert durch Phosphorylierung mit Smad 2 und Smad 3, welche daraufhin einen Komplex mit Co-Smad (Smad 4) bilden. Dieser Komplex wird vom Zytoplasma in den Nucleus der Zelle transferiert, wo er mit Hilfe von DNA-bindenden aktivierenden Faktoren, genannt FoxH (forkhead box H), an die Promotorregion der Zielgene bindet und die Genexpression über Transkriptionsfaktoren (TF) moduliert. Smad 6 und 7 wirken inhibierend und können die Activinwirkung blockieren. Der Signalweg von Inhibin ist nicht vollständig bekannt. Inhibin könnte mit Hilfe seines Corezeptors Betaglycan (BG) als Antagonist am Activinrezeptor (II) wirken oder seine Wirkung über Inhibin binding proteins (InhBP) vermitteln.

Grafik in Anlehnung an Risbridger et al [102].

1.2.4 Expression

Die Hauptquelle der Inhibin-Untereinheiten sind die Gonaden, insbesondere die Granulosazellen des Ovars bei der Frau und die Sertolizellen des Hodens beim Mann [20, 117, 118]. Inhibine und Activine werden jedoch in einer großen Anzahl weiterer Organe und Gewebe exprimiert, wie zum Beispiel in der Hypophyse, der Plazenta, der Nebenniere, der Niere, der Leber, dem Knochenmark, dem Gehirn und der Mamma, wo sie verschiedene, gewebsspezifische Funktionen ausüben [91, 119].

Im Ovar werden die Inhibin-Untereinheiten nicht nur in den Granulosazellen des Primärfollikels gebildet, die INH- α -Untereinheit konnte auch in den Theka-Interna-Zellen nachgewiesen werden [96, 120, 121]. Da somit sowohl Granulosa- als auch Theka-Interna-Zellen INH- α produzieren können, ist die Anzahl der α -Untereinheiten folglich höher als die der β -Untereinheiten, da diese lediglich von den Granulosazellen produziert werden [122]. Die ovarielle Flüssigkeit enthält somit relativ mehr $\alpha\beta$ -Dimere (Inhibin) als $\beta\beta$ -Dimere (Activin), was den inhibierenden Effekt der follikulären Flüssigkeit auf die FSH-Sekretion erklärt [20].

Im Ovar und im Endometrium zeigen die Inhibinkonzentrationen eine menstruationszyklusabhängige Expression [123, 124]. In der späten lutealen und frühen follikulären Phase steigen durch GnRH-Wirkung die FSH-Spiegel. Die Serumkonzentration von Inhibin B steigt unter FSH-Stimulation so lange an, bis der negative Feedbackmechanismus greift und die FSH-Spiegel vor der Ovulation wieder fallen. Inhibin B erreicht somit einen Peak in der frühen bis mittleren follikulären Phase [125, 126]. Die Granulosazellen des dominanten Follikels reagieren durch vermehrte Rezeptorexpression verstärkt auf LH, wodurch die Expression von Inhibin B zu Inhibin A wechselt. Das Corpus luteum produziert nach dem LH-Peak vermehrt INH- α - und - β A-Untereinheiten. Somit ist die Inhibin A-Konzentration in der lutealen Phase am höchsten [127]. Activin hingegen bleibt im Laufe des Menstruationszyklus relativ konstant [128].

Die Sekretionsmuster der Inhibine zeigen Variationen im Laufe der Entwicklung und der Pubertät, der Schwangerschaft und der Menopause. In der Pubertät steigen die Inhibinspiegel kontinuierlich mit dem Lebensalter an und erreichen in der Mitte der Pubertät ihr Maximum. Postpubertär sinken die Konzentrationen auf einen konstanten Wert, der höher liegt als präpubertär [129]. Bereits prämenopausal beginnen Inhibin A und B sowie AMH zu sinken [130, 131]. In der Menopause sinken die Inhibinspiegel weiter, wobei in der frühen Perimenopause zunächst eine Abnahme der Inhibin B-Konzentration zu beobachten ist.

In der späten Perimenopause fällt dann Inhibin A und Östradiol im Serum, während FSH signifikant ansteigt [132]. Activin hingegen, insbesondere Activin A, steigt mit zunehmenden Lebensalter signifikant an [133, 134].

Die Serumkonzentrationen von Inhibin A sowie von Inhibin B und Pro- α C fallen nach einer bilateralen Oophorektomie und somit dem Ausschalten der ovariellen Funktion signifikant ab [135].

Auch im Brustdrüsengewebe konnte die Expression der drei Inhibin- und Activinuntereinheiten INH- α , INH- β A und INH- β B detektiert werden. Sie werden unabhängig vom Menstruationszyklus sowohl in den dukталen, als auch in den lobulären Zellen exprimiert, mit einer leichten Abnahme der INH- α -Untereinheit nach der Menopause [136]. Activin A und Follistatin sind in den ersten Wochen der Laktation in hohen Konzentrationen in der Muttermilch vorhanden. Luisi et al. interpretieren dies als Hinweis auf eine mögliche Rolle von Activin und Follistatin als Wachstumsfaktoren in der Muttermilch [137].

1.2.5 Inhibin, Activin und weibliche endokrine Tumore

Die Glykoproteine Inhibin und Activin kommen nicht nur in zahlreichen gesunden Geweben vor, sondern auch in vielen malignen Tumoren wie beispielsweise von Ovar, Endometrium, Plazenta, Brust, Hoden, Prostata, Nebennieren, Hypophyse, Pankreas, Niere und Leber [102]. Die Expression der Inhibin- und Activinuntereinheiten in diesen zahlreichen, verschiedenen Tumorgeweben weist darauf hin, dass diese Proteine neben ihren reproduktiven Funktionen auch eine Rolle bei der Tumorgenese spielen [83, 138]. Die Funktion der INH- α -Untereinheit als Tumorsuppressor in endokrinen Tumoren wurde anhand von funktionellen Untersuchungen in transgenen Mausmodellen demonstriert [102]. Transgene Mäuse mit einer Deletion der INH- α -Untereinheit entwickelten gonadale Stromatumoren [139]. Dies könnte einerseits dadurch begründet sein, dass durch die fehlende INH- α -Untereinheit die Inhibinproduktion aufgehoben ist und es somit zur unkontrollierten FSH-Sekretion kommt. FSH wirkt mitogen auf die Granulosazellen, was ein Tumorwachstum begünstigen kann. Zum anderen könnte eine Überexpression von β -Dimeren (Activin) stattfinden. Activin wirkt auf einige Gewebe wie Ovar, Hoden und Nebenniere wachstumsfördernd, was die Bildung eines Malignoms erklären könnte [20].

Da Inhibin und Activin hauptsächlich in den Granulosazellen des Ovars gebildet werden, ist es kaum verwunderlich, dass ihre Serumwerte bei malignen Erkrankungen des Ovars ansteigen und besonders bei postmenopausalen Frauen, bei denen insbesondere Inhibin normalerweise kaum bis gar nicht nachweisbar ist, als mögliche Diagnosemarker für Ovarialkarzinome in Frage kommen [140, 141]. Bei Granulosazelltumoren sind Inhibin A und Inhibin B signifikant erhöht [102, 142]. Aber auch bei epithelialen Ovarialtumoren konnten die Inhibinuntereinheiten immunhistochemisch nachgewiesen werden. Allerdings sind sie im klinischen Alltag bisher noch nicht genügend etabliert, daher ist ihre Messung nur in Kombination mit anderen Markern (wie beispielsweise CA 125) sinnvoll.

Die Inhibin- und Activinuntereinheiten konnten des Weiteren sowohl im benignen als auch im maligne veränderten Endometriumgewebe immunhistochemisch nachgewiesen werden [143]. Die immunhistochemische Färbereaktion von INH- α wurde im Vergleich zum normalen Endometriumgewebe schwächer, je invasiver der Tumor und je schlechter die Differenzierung war. Somit stellt seine Abnahme einen Parameter der malignen Zelltransformation dar. INH- α könnte folglich als Tumorsuppressor des Endometriumkarzinoms und als unabhängiger Prognosemarker fungieren [144].

Auch in der Plazenta scheinen die Inhibin- und Activinuntereinheiten eine Rolle zu spielen [102, 145, 146]. Die INH- α -Untereinheit ist in fast allen schwangerschaftsbedingten Trophoblastenläsionen, wie beispielsweise der Blasenmole, der invasiven Blasenmole, dem Chorionkarzinom und den trophoblastischen Plazentatumoren mittels immunhistochemischer Färbereaktion detektierbar [145, 147, 148].

1.2.6 Inhibin, Activin und Mammakarzinom

Die Inhibin-Untereinheiten konnten immunhistochemisch sowohl im normalen Mammaepithel, als auch bei benignen und malignen Brusterkrankungen nachgewiesen werden (**Abbildung 4 und 5, Seite 17**) [136]. Sie werden im normalen Brustgewebe unabhängig vom Menstruationszyklus exprimiert, jedoch mit einer leichten Abnahme der INH- α -Untereinheit nach der Menopause. Die Studie von Di Loreto et al. konnte zeigen, dass die Inhibin- β -Untereinheiten INH- β A und INH- β B im Gegensatz zum gesunden Gewebe in benignen Neoplasien vermindert waren und nahezu negativ bei den malignen Brusterkrankungen. Auch INH- α war speziell im Karzinomgewebe schwächer vorhanden.

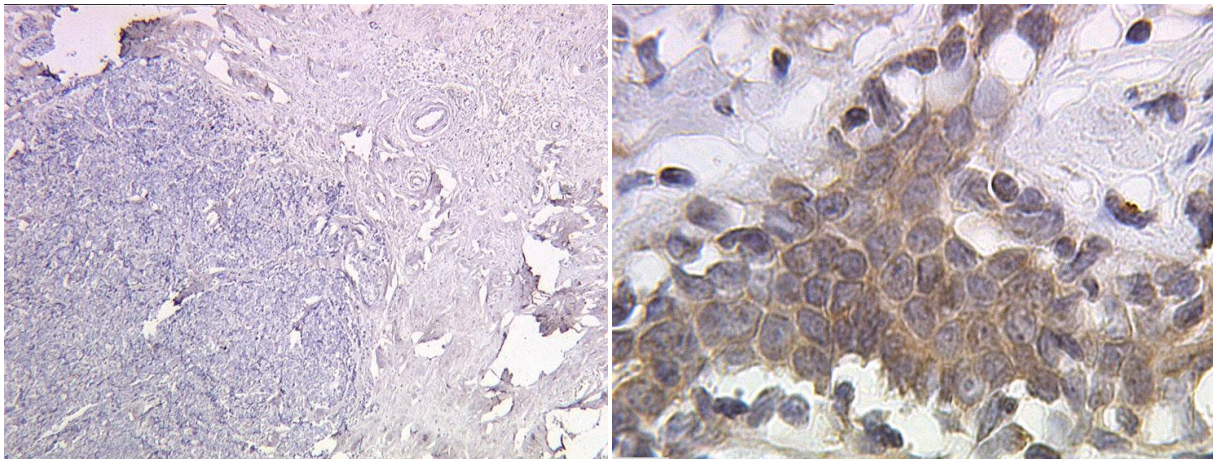


Abbildung 4 und 5. Immunhistochemische Färbung der INH- α - und - β A-Untereinheit im Mammakarzinomgewebe.

INH- α wurde minimal im invasiven Mammakarzinom exprimiert (Abb. 4, x100), INH- β A zeigte eine starke immunhistochemische Färbereaktion (Abb. 5, x400).

Die immunhistochemischen Bilder wurden freundlicherweise von Professor Mylonas aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Ludwig-Maximilians-Universität München zur Verfügung gestellt (Aus Mylonas et al.[149]).

Die verminderte Expression dieser Proteine könnte eine abnorme Zellproliferation beim Mammakarzinom begünstigen und somit auch Hinweise auf eine maligne Entartung geben [136]. Der Vergleich verschiedener maligner Brusterkrankungen wie dem duktalem Carcinoma in situ (DCIS), dem invasiven duktalem Karzinom ohne (IDC) und mit Lymphknotenmetastasen (IDC/LN) sowie dem duktalem Primärtumor mit darauffolgendem Rezidiv in Bezug auf die Inhibinuntereinheiten zeigte, dass die INH- α -Untereinheit im DCIS stärker exprimiert wurde als in den invasiven Formen, genauso wie INH- β A. INH- α und INH- β A waren bei den invasiveren Erkrankungen vermindert. Die INH- β A-Expression war jedoch beim duktalem Primärtumor mit darauffolgendem Rezidiv höher als beim IDC/LN. Lymphknotenmetastasen exprimierten am wenigsten INH- β A. INH- β B konnte zwar in allen Mammakarzinomgeweben nachgewiesen werden, jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede in Hinsicht auf die Art des Gewebes. Diese unterschiedlich starke Expression von INH- α und INH- β A weist ebenfalls auf eine Rolle der Inhibinuntereinheiten bei der Karzinogenese des Mammakarzinoms hin. INH- α könnte als Tumorsuppressor fungieren und ein Marker für das Risiko, ein invasives Karzinom zu entwickeln, sein. Je niedriger die Expression von INH- α und INH- β A, desto maligner und invasiver der Tumor [149].

Activin und der Activin-Typ-II-Rezeptor konnten in verschiedenen Brustzelllinien nachgewiesen werden und scheinen in einigen dieser Zelllinien das Zellwachstum in vitro zu regulieren [150].

Auch in menschlichen Brustkrebszellen ist Activin in der Lage das Zellwachstum zu hemmen [151]. Des Weiteren wird die mRNA der INH- β A-Untereinheit im Mammakarzinom stärker exprimiert als im normalen Gewebe. Dimeres Activin A war im Karzinomgewebe ebenfalls signifikant höher als im nicht-neoplastischen Gewebe und auch die Activin A-Serumkonzentration war bei Mammakarzinompatientinnen im Vergleich zu gesunden Kontrollpatientinnen signifikant erhöht und zwar unabhängig von Lymphknotenmetastasen, Tumorgrading und Tumorgröße. Nach chirurgischer Exzision des Tumors sanken die Activin-A-Serumkonzentration, so dass die Möglichkeit besteht, dass der Tumor selbst fähig ist Activin A zu produzieren und somit die Quelle des zirkulierenden Activins darstellt [152, 153]. Da Activin A die Proliferation von Brustkrebszelllinien in vitro hemmen kann [150, 154], wird dieses Glykoprotein als antiproliferativer Faktor beim Mammakarzinom diskutiert [152]. Activin A scheint die Proliferation von Mammakarzinomzellen zu hemmen, indem es Smad-Proteine aktiviert, die zum Zellzyklusarrest führen [155].

Des Weiteren wurde beschrieben, dass Patientinnen mit Knochenmetastasen beim Mammakarzinom signifikant höhere Activin A-Serumwerte zeigten als die Gruppe ohne Knochenmetastasen [156]. Dies deutet darauf hin, dass Activin A bei der Pathogenese von ossären Metastasen eine Rolle spielt.

1.2.7 Inhibin, Activin und Chemotherapie

Eine von vielen möglichen Nebenwirkungen der Chemotherapie ist die Gonadotoxizität durch Schädigung der ovariellen Zellen. Dieser zytotoxische Effekt betrifft nicht nur die Keimzellen, sondern auch die hormonaktiven Theka- und Granulosazellen, so dass es zu einem Abfall der Östrogenspiegel kommt und dementsprechend zu einer Erhöhung von FSH und LH [157, 158]. Die Folge sind entweder eine vorzeitige Menopause mit bleibender Infertilität oder eine ovarielle Dysfunktion mit Amenorrhö und möglichem Erholungspotential [158]. In diesem Zusammenhang ist auch der Begriff des POF-Syndroms (premature ovarian failure) zu nennen. Es beschreibt eine verfrühte Menopause vor dem 40. Lebensjahr. Diese kann aufgrund genetischer Ursachen, Autoimmunerkrankungen, endokriner Erkrankungen wie Galaktosämie, Tumoren, viralen Infektionen, Myasthenia gravis oder sekundär durch Chemo- oder Strahlentherapie sowie Drogenkonsum auftreten [159, 160]. Die chemotherapiebedingte Amenorrhö (CRA = chemotherapy related amenorrhea) als sekundäre Form des POF-Syndroms ist durch die Gonadotoxizität der zytostatischen Therapie bedingt [64].

Die Ausprägung der gonadalen Schädigung hängt von der Art und Dosierung der verwendeten Zytostatika ab, aber auch vom Alter der Patientin zum Zeitpunkt der Therapie [161-163]. Da bereits junge, prämenopausale Frauen an einem Mammakarzinom erkranken, spielt das Thema der chemotherapiebedingten Amenorrhö durch permanente oder passagere Ovarialinsuffizienz eine wichtige Rolle [1]. Insbesondere für Frauen mit nicht abgeschlossener Familienplanung ist dieses Thema für die Lebensqualität von entscheidender Bedeutung, nicht nur in Bezug auf die Konzeptionsfähigkeit, sondern auch im Hinblick auf perimenopausale Beschwerden und Osteoporose. Die Ovarialreserve kann neben der Anzahl der antralen Follikel anhand von verschiedenen Serummarkern wie FSH, Inhibin B, Östradiol und AMH gemessen werden [163, 164]. Inhibin B und AMH, ein verwandtes Protein aus der TGF- β -Familie, sind insbesondere mit der chemotherapiebedingten Amenorrhö assoziiert. Diese Hormone sind bei Frauen mit CRA signifikant niedriger als bei der altersentsprechenden Kontrollgruppe und scheinen somit bei Mammakarzinompatientinnen eine Rolle als Biomarker für die post-chemotherapeutische ovarielle Funktion zu spielen [165]. AMH ist dabei der sensitivere Marker und seine Sekretion scheint von der hypothalamisch-ovariellen Achse nicht beeinflusst zu werden [166]. Besonders prä-chemotherapeutisch niedrige Werte von Inhibin B und AMH scheinen das CRA-Risiko zu erhöhen und könnten prädiktive Marker für die chemotherapiebedingte Amenorrhö darstellen [167].

1.3 Ziele und Fragestellungen

Das Mammakarzinom ist der häufigste bösartige Tumor der Frau. Zwar steigt die Wahrscheinlichkeit an Brustkrebs zu erkranken mit zunehmendem Lebensalter kontinuierlich an, dennoch werden Mammakarzinome auch bereits bei jungen, prämenopausalen Frauen diagnostiziert. Aus diesem Grund besteht großes Interesse, geeignete Messmethoden zur Auswirkung der Chemotherapie auf die ovarielle Reserve sowie die Fertilität der erkrankten Frauen zu finden.

Ziel dieser Arbeit ist deshalb zunächst die qualitative und quantitative Messung der verschiedenen Inhibine (Inhibin A und Inhibin B) und Activine (Activin A, Activin B und Activin AB) im Serum von Mammakarzinompatientinnen, welche eine adjuvante Chemotherapie erhielten, um anschließend deren mögliche Rolle als Prognosemarker beim Mammakarzinom, im Rahmen der adjuvanten Chemotherapie sowie bei der chemotherapiebedingten Amenorrhö zu eruieren.

Der Arbeit liegen folgende Fragestellungen zugrunde:

1. Wie verhalten sich die Glykoproteine Inhibin und Activin im Serum von Mammakarzinompatientinnen im zeitlichen Verlauf der adjuvanten Chemotherapie sowie in Bezug auf Alter, Größe, Gewicht, Tumorgöße, Amenorrhö, Menopausenstatus, Chemotherapieschema, Her2/neu-Status, Rezeptorstatus und Therapie mit Trastuzumab (Herceptin®), Tamoxifen, Anastrozol (Arimidex®) und Goserelin (Zoladex®)?
2. Können Inhibin und Activin mögliche Serummarker für die ovarielle Reserve darstellen?
3. Welche Rolle spielen Inhibin und Activin als prognostische Marker beim Mammakarzinom?

2 Material und Methoden

2.1 Patientinnenkollektiv und Untersuchungsmaterial

Grundlage der vorliegenden Arbeit waren Serumproben, die 30 Patientinnen im Rahmen der SUCCESS A-Studie entnommen worden waren. Bei den zwischen 1936 und 1970 geborenen Patientinnen war im Zeitraum von September 2005 bis Januar 2006 ein invasives Mammakarzinom diagnostiziert worden. Es handelte sich dabei in 80% um invasiv duktile Karzinome. Ungefähr die Hälfte der Patientinnen (53,3%) befand sich vor der Menopause, die andere Hälfte war postmenopausal. Bei allen Frauen erfolgte eine R0-Resektion des Primärtumors und eine adjuvante Chemotherapie nach SUCCESS A-Schema, welches im Folgenden näher erläutert wird.

Von jeder der 30 Patientinnen lagen drei Serumproben von drei verschiedenen Zeitpunkten vor:

- Zeitpunkt 1 = vor Beginn der Chemotherapie,
- Zeitpunkt 2 = vier Wochen nach Abschluss des letzten Chemotherapiezykluses,
- Zeitpunkt 3 = zwei Jahre nach Abschluss der Chemotherapie.

Folglich wurden insgesamt 90 Serumproben auf die Inhibin- und Activinkonzentration untersucht.

2.2 Die SUCCESS A-Studie

Die SUCCESS A-Studie ist eine multizentrische, prospektiv randomisierte Studie zum Vergleich von Wirksamkeit und Verträglichkeit zweier unterschiedlicher adjuvanter Chemotherapieschemata beim Mammakarzinom gefolgt von einer zwei- oder fünfjährigen Bisphosphonattherapie. Die primäre Zielsetzung der SUCCESS A-Studie ist der Vergleich der rezidivfreien Überlebenszeit nach Randomisierung von Patientinnen, die adjuvant FEC-DOC-Chemotherapie (drei Zyklen 5-Fluorouracil + Epirubicin + Cyclophosphamid gefolgt von drei Zyklen Docetaxel) erhielten versus Patientinnen, die FEC-DG-Chemotherapie (drei Zyklen 5-Fluorouracil + Epirubicin + Cyclophosphamid gefolgt von drei Zyklen Docetaxel + Gemcitabin) erhielten. Des Weiteren hat die Studie den Vergleich der rezidivfreien Überlebenszeit nach Randomisierung von Patientinnen, die zwei Jahre versus fünf Jahre mit dem Bisphosphonat Zoledronat (Zometa®) behandelt wurden, zum Ziel.

Die sekundären Studienziele sind der Vergleich der folgenden Punkte in den vier Behandlungsarmen:

- Gesamtüberleben nach Randomisation
- Fernmetastasenfreies Überleben
- Toxizität
- Änderung der Lebensqualität definiert nach EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) QLQ-C30 und QLQ-BR23

Die Ein- und Ausschlusskriterien sowie das Studiendesign der SUCCESS A-Studie finden sich im Anhang (**siehe Seite 84-86 sowie Abbildung 28, Seite 86**) [168].

2.3 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Die Serumproben der Patientinnen wurden im Rahmen dieser Arbeit mittels ELISA untersucht. Der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ist ein empfindliches, immunologisches Verfahren um bestimmte Moleküle, vor allem Proteine, qualitativ und quantitativ nachzuweisen. Dabei wird ein Mechanismus des Immunsystems genutzt: die Fähigkeit von Antikörpern bestimmte Moleküle spezifisch zu binden und zu markieren, die sogenannte Antigen-Antikörper-Reaktion, die in diesem Untersuchungsverfahren in vitro durchgeführt wird. Die Antikörper und zum Teil auch die Antigene werden zuvor mit einem bestimmten Enzym gekoppelt, das eine Reaktion auslöst, die zusammen mit einer Farbsubstratlösung zu einer messbaren Farbänderung der Probenlösung führt.

2.3.1 Inhibin-ELISA

Im Fall der Glykoproteine Inhibin A und Inhibin B handelte es sich um einen ELISA nach der sogenannten Sandwich-Methode, bei dem insgesamt zwei Antikörper an unterschiedlichen Stellen des Inhibins binden. Für Inhibin A wurde zusätzlich ein ultrasensitiver Test durchgeführt mit dem Hintergrund bereits geringste Inhibin A-Konzentrationen nachweisen und die Konzentrationsunterschiede akkurater darstellen zu können [169, 170]. Hierfür wurden, im Unterschied zum „normalen“ Inhibin A-ELISA, spezifischere monoklonale Antikörper verwendet und der ELISA wurde enzymatisch verstärkt durchgeführt („Two-Step“-ELISA).

Der primäre Antikörper war fest auf eine spezielle Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden (gecoatet). Zunächst wurden je 50 µl der Standardproben, der Kontrollen und der zu untersuchenden Serumproben in die jeweiligen Mikrotiterkammern (im Folgenden Kammern) pipettiert. Die sieben Standardproben enthielten bekannte Konzentrationen an Inhibin und bildeten die zur Auswertung benötigte Standardkurve. Die zwei Kontrollproben enthielten je eine hohe und eine niedrige Konzentration an Inhibin und waren notwendig, um die Validität des Tests zu belegen. Des Weiteren wurden in jede Kammer je 50 µl Proteinpuffer A und B gegeben. Die Mikrotiterplatte wurde abgedeckt und für mehrere Stunden bei Zimmertemperatur auf einem Horizontalschüttler (Varishaker) bei 300 UpM (Umdrehungen pro Minute) geschüttelt und inkubiert. In dieser Zeit konnten die primären Antikörper das Antigen Inhibin binden, sofern es in den Proben vorhanden war. Nach der Inkubation und mehrmaligem Waschen mit Waschpuffer, um die nichtgebundenen Teile der Proben zu entfernen, wurden je 100 µl Inhibin-Antikörper-Enzymkonjugatlösung in die Kammern pipettiert. Diese enthielt den sekundären Detektions-Antikörper. Der sekundäre Antikörper war, im Fall von Inhibin A, direkt mit dem Enzym Meerrettichperoxidase (Horseradish peroxidase HRP) markiert. Beim ultrasensitiven Inhibin A- und beim Inhibin B-ELISA waren die Antikörper zunächst biotinyliert und wurden erst in einem späteren Schritt über ein an Meerrettichperoxidase gebundenes Streptavidin an das Enzym gebunden („Two-Step“). Die bedeckte Platte wurde ein weiteres Mal auf dem Varishaker bei 300 UpM für eine Stunde inkubiert. Nun lagerten sich die zweiten Antikörper an den bereits bestehenden Antigen-Antikörper-Komplex an und es entstand der sogenannte „Sandwich“ - ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Nach erneutem mehrmaligem Waschen erfolgte die 25-minütige Inkubation mit je 100 µl TMB-Chromogen-Lösung, einer Lösung von Tetramethylbenzidin (TMB) in Citratpuffer mit Wasserstoffperoxid. Dieses Farbsubstrat erzeugte einen Farbumschlag, der durch die bereits vorhandene HRP katalysiert wurde. Bei diesem letzten Inkubationsvorgang wurde die Platte erneut auf dem Varishaker geschüttelt und durch eine lichtundurchlässige Abdeckung vor Sonnen- und Lichteinwirkung geschützt. Anschließend wurden pro Kammer 100 µl saure Schwefelsäurelösung (Stopp-Solution) zugegeben, woraufhin der Grad des enzymatischen Farbumschlags des Substrats durch Zweiwellenlängen-Absorptionsmessung im ELISA-Reader bei 450 nm und 620 nm gemessen wurde. Die gemessene Absorption war direkt proportional zur Konzentration des vorhandenen Antigens. Mit Hilfe der Standardkurve aus den bekannten Standardproben konnte die genaue Inhibinkonzentration berechnet werden.

2.3.2 Activin-ELISA

Der Activin-ELISA verlief nach ähnlichem Prinzip wie der Inhibin-ELISA. Beim Activin-Nachweis handelte es sich um einen „One-Step“-Assay, bei dem das Enzym schon zusammen mit dem sekundären Antikörper in der Enzymkonjugat-Lösung enthalten war (ähnlich wie beim „normalen“ Inhibin A-ELISA). Zunächst wurden pro Kammer je 100 µl Standardproben, Kontrollen und diesmal verdünnte Serumproben in die Kammern pipettiert. Die Verdünnung betrug 1 zu 1000 mit Standard A (=Blank). Ohne weitere Zwischenschritte wurden je 25 µl (bei Activin A) beziehungsweise 50 µl (bei Activin B und Activin AB) Activin-Antikörper-Enzym-Konjugat zugegeben. Während der zwei- bis dreistündigen Inkubationszeit auf dem Varishaker bei Raumtemperatur, wurden sowohl die primären als auch die sekundären Antikörper in einem Schritt („One-Step“) an das gegebenenfalls vorhandene Activin gebunden. Nach vollendeter Inkubationszeit und mehrmaligem Waschen der Kammern, erfolgte nun direkt die Zugabe von 100 µl TMB-Chromogen-Substrat. Noch einmal wurde die gesamte Platte lichtgeschützt für 15 Minuten auf dem Horizontalschüttler inkubiert. Daraufhin folgte die Absorptionsmessung des enzymatischen Substratumsatzes beziehungsweise Farbumschlags ebenfalls bei 450 nm und 620 nm innerhalb von 30 Minuten nach Auftragen der Stopp-Solution.

2.3.3 Verwendete Materialien

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Materialien finden sich in tabellarischer Form im Anhang (**Tabelle 4, Seite 87**).

2.4 Statistische Auswertung

Die gesammelten Daten wurden mit dem Microsoft Tabellenkalkulationsprogramm Excel dokumentiert und verwaltet. Die statistische Auswertung erfolgte mittels des Datenanalyseprogramms SPSS für Windows (ursprünglich als Abkürzung für die Bezeichnung Statistical Package for the Social Sciences; Social Sciences computer software version 15.0; SPSS Inc., Chicago). Die graphische Darstellung wurde mit Hilfe des Microsoft Tabellenkalkulationsprogrammes Excel durchgeführt.

Betrachtet wurden die Konzentrationen von Inhibin und Activin in den Serumproben von Mammakarzinompatientinnen zu verschiedenen Zeitpunkten in Bezug auf die adjuvante Chemotherapie:

- Zeitpunkt 1 = vor Beginn der Chemotherapie,
- Zeitpunkt 2 = vier Wochen nach Abschluss des letzten Chemotherapiezykluses,
- Zeitpunkt 3 = zwei Jahre nach Abschluss der Chemotherapie.

Zunächst wurden die Daten anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung getestet. Da es sich um nichtparametrische beziehungsweise nichtnormalverteilte Daten handelte, wurde zur Auswertung des zeitlichen Verlaufs der Friedman-Test für mehrere abhängige Stichproben angewandt. Die einzelnen Zeitpunkte wurden mittels des Wilcoxon-Tests, einem nichtparametrischen Test für zwei abhängige Stichproben, verglichen. Die Aspekte Alter, Amenorrhö, Menopausenstatus, Chemotherapieschema, Her2/neu-Status und Rezeptorstatus sowie Therapie mit Trastuzumab (Herceptin®), Tamoxifen, Anastrozol (Arimidex®) und Goserelin (Zoladex®) wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests, einem nichtparametrischen Test für zwei unabhängige Stichproben, verglichen. Für die statistische Auswertung in Bezug auf Größe und Gewicht der Patientinnen sowie Tumorgröße wurde der Kruskal-Wallis-Test als nichtparametrischer Test für mehrere unabhängige Stichproben angewandt.

Bei allen statistischen Verfahren wurde die Option „Listenweiser Fallausschluss“ verwendet.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als signifikant, $p < 0,01$ als hoch signifikant und $p < 0,001$ als höchst signifikant definiert.

3 Ergebnisse

3.1 Klinisch-pathologische Aspekte des Patientinnenkollektivs

3.1.1 Alter bei Erstdiagnose

Das mediane Alter der Patientinnen bei Erstdiagnose des Mammakarzinoms betrug 52 Jahre. Der Mittelwert lag bei 52,5 Jahren. Die Altersverteilung reichte von 35 bis 69 Jahren und ergab somit eine Spannweite von 34 Jahren. 13 (43,3%) der Patientinnen waren bei Erstdiagnose jünger als 52 Jahre, 17 (56,7%) waren 52 Jahre oder älter.

3.1.2 Menopausenstatus

Der Menopausenstatus war in etwa gleich verteilt. 16 der 30 Patientinnen und somit 53,3% wurden als prämenopausal diagnostiziert, 14 (46,7%) als postmenopausal. Diese Verteilung ist eher ungewöhnlich, da invasive Mammakarzinome meist erst in höherem Alter und somit nach der Menopause auftreten beziehungsweise diagnostiziert werden. Im Rahmen dieser Studie war es jedoch sehr hilfreich einen relativ großen Anteil an prämenopausalen Brustkrebspatientinnen einschließen zu können, um die Chemotherapie-induzierte Amenorrhö adäquat zu beurteilen. Das Durchschnittsalter der prämenopausalen Frauen lag bei 45,3 Jahren (Varianz 35 bis 54 Jahre), das der postmenopausalen bei 60,8 Jahren (Varianz 52 bis 69 Jahre).

3.1.3 Amenorrhö

Bei 13 von 16 prämenopausalen Patientinnen und somit 81,25% stellte sich im Verlauf der Chemotherapie eine Amenorrhö als Nebenwirkung ein. Insgesamt bestand nach der Chemotherapie bei 90% aller Patientinnen (prä- und postmenopausal zusammen) eine Amenorrhö.

3.1.4 Histologie

Die Mehrzahl der Patientinnen, 24 von 30 und somit 80%, wurde aufgrund eines invasiv duktales Mammakarzinoms behandelt. Bei einem geringen Teil (6,7%) wurde ein invasiv lobuläres Karzinom diagnostiziert. Vier Patientinnen (13,3%) waren aufgrund von sonstigen invasiven Brustkrebsarten in Therapie.

3.1.5 Chemotherapie

Von dem untersuchten Patientinnenkollektiv waren 40%, also 12 von 30 Patientinnen, in der Randomisationsgruppe AA und erhielten somit das Chemotherapieschema mit Gemcitabin FEC-DG (5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 75mg/m² und Gemcitabin 1000mg/m² i.v. KOF d1,8 q3w x 3). 60% (18 von 30 Patientinnen) waren in der Randomisationsgruppe AB und erhielten ausschließlich die FEC-DOC-Chemotherapie ohne Gemcitabin (5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 100mg/m² i.v. KOF q3w x 3) (siehe Studiendesign der SUCCESS A-Studie im Anhang, **Abbildung 28, Seite 86**).

3.1.6 Hormonrezeptorstatus und endokrine Therapie

Der Hormonrezeptorstatus war bei 60%, das heißt bei 18 von 30 Patientinnen, negativ. Somit war der größere Anteil der Tumore hormonunempfindlich. Bei 40%, also bei 12 von 30 Patientinnen, war der Hormonrezeptorstatus positiv, das heißt mindestens einer der beiden Rezeptoren (Östrogenrezeptor und Progesteronrezeptor) war positiv. Der Rezeptorstatus wurde im Rahmen der SUCCESS A-Studie immunhistologisch bestimmt und die Daten freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

23,3% der Patientinnen (7 von 30 Frauen) erhielten eine endokrine Therapie mit dem selektiven Östrogenrezeptor-Modulator Tamoxifen. Eine Patientin (3,3%) erhielt den Aromatase-Inhibitor Anastrozol und drei (10%) das GnRH-Analogon Goserelin.

3.1.7 Her2/neu-Status und Trastuzumabtherapie

Bei zwei Drittel der Patientinnen (66,7% beziehungsweise 20 von 30) war der Her2/neu-Status negativ und somit bei 33,3% (10 von 30 Patientinnen) positiv. 23,3% der Patientinnen (7 von 30 Frauen) wurden mit dem Antikörper Trastuzumab behandelt.

3.2 Serumanalyse der Inhibin- und Activinkonzentrationen

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Serumproben stammen von Patientinnen, die aufgrund eines Mammakarzinoms eine adjuvante Chemotherapie nach dem SUCCESS A-Studienschema erhielten und wurden an drei verschiedenen Zeitpunkten gewonnen:

- Zeitpunkt 1 = vor Beginn der Chemotherapie,
- Zeitpunkt 2 = vier Wochen nach Abschluss des letzten Chemotherapiezykluses,
- Zeitpunkt 3 = zwei Jahre nach Abschluss der Chemotherapie.

Zu diesen unterschiedlichen Zeitpunkten wurden jeweils die Konzentrationen der verschiedenen Inhibine (Inhibin A im normalen und ultrasensitiven Nachweis sowie Inhibin B) und Activeine (Activin A, Activin B, Activin AB) gemessen und deren Mittelwerte im Hinblick auf unterschiedliche Parameter wie zeitlichen Verlauf, Alter, Größe, Gewicht, Tumorgöße, Menopausenstatus der Patientinnen, Amenorrhö, Chemotherapieschema, Her2/neu-Status, Rezeptorstatus sowie Therapie mit Trastuzumab (Herceptin®), Tamoxifen, Anastrozol (Arimidex®) und Goserelin (Zoladex®) verglichen und statistisch ausgewertet.

Bei den Parametern Größe und Gewicht der Patientinnen, Tumorgöße und Hormonrezeptorstatus des Tumors sowie den verschiedenen, endokrinen Therapien mit Tamoxifen, Goserelin (Zoladex®) und Anastrozol (Arimidex®) ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse. Daher wurde auf eine graphische Darstellung verzichtet. Die nicht-signifikanten Ergebnisse finden sich in tabellarischer Form im Anhang (**Tabelle 5-16, Seite 88-99**).

Im Folgenden werden die signifikanten Ergebnisse genauer dargestellt.

3.2.1 Inhibin A (im normalen und ultrasensitiven Nachweis)

3.2.1.1 Zeitlicher Verlauf von Inhibin A

Die mittlere Inhibin A-Serumkonzentration (Mittelwert \pm Standardabweichung) betrug vor Chemotherapie 131,57 ($\pm 35,61$) ng/ml und sank vier Wochen nach Chemotherapie auf 116,41 ($\pm 14,8$) ng/ml. Zwei Jahre nach Chemotherapie stieg der Wert wieder minimal an auf 118,27 ($\pm 20,13$) ng/ml. Weder der Abfall noch der Anstieg der Inhibin A-Konzentration waren jedoch signifikant ($p=0,485$) (**Abbildung 6**).

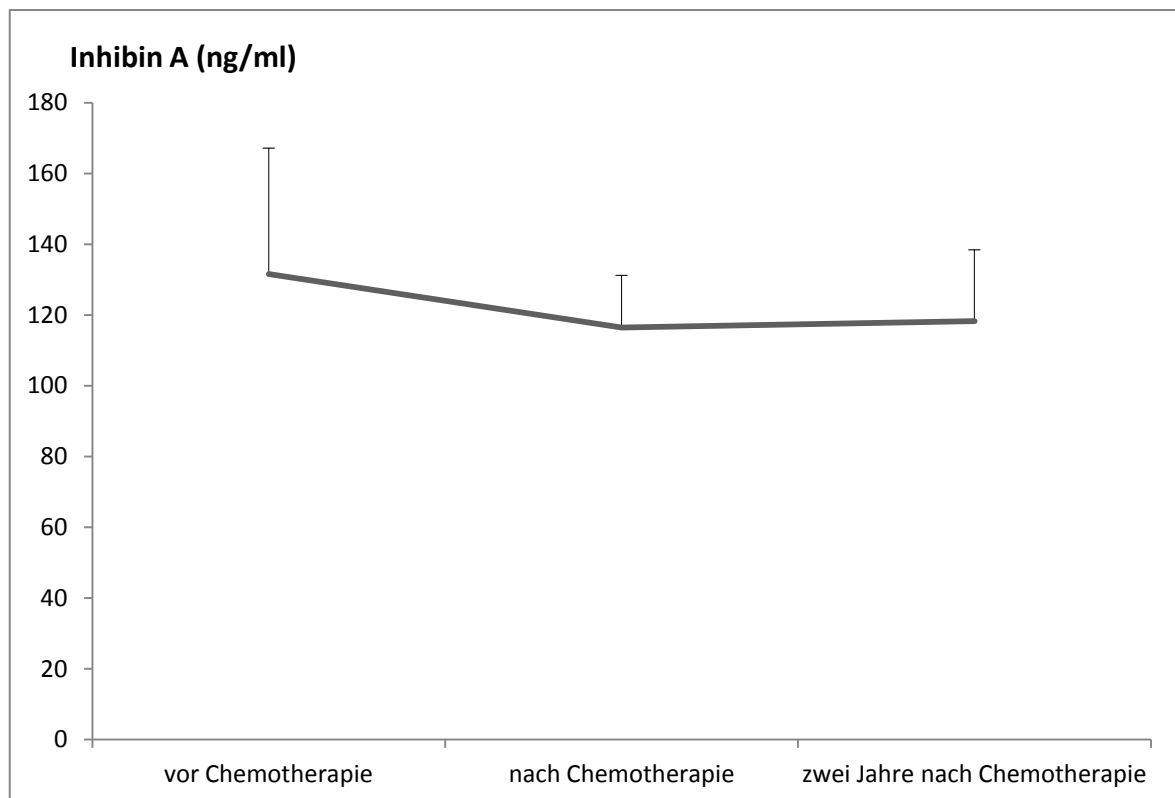


Abbildung 6. Zeitlicher Verlauf der serologischen Inhibin A-Konzentrationen in ng/ml im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie.

Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.1.2 Zeitlicher Verlauf von Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A)

Während die mittlere Konzentration von Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) vor der Chemotherapie noch 14,81 ($\pm 20,58$) pg/ml betrug, war sie vier Wochen nach Chemotherapie auf 4,19 ($\pm 11,09$) pg/ml gefallen und zwei Jahre nach Chemotherapie weiter auf 3,51 ($\pm 6,95$) pg/ml. Im Friedman-Test ergab sich ein hoch signifikanter Unterschied für die drei Zeitpunkte in Bezug auf die serologische Inhibin A-Konzentration im ultrasensitiven Nachweis ($p=0,007$) (**Abbildung 7**).

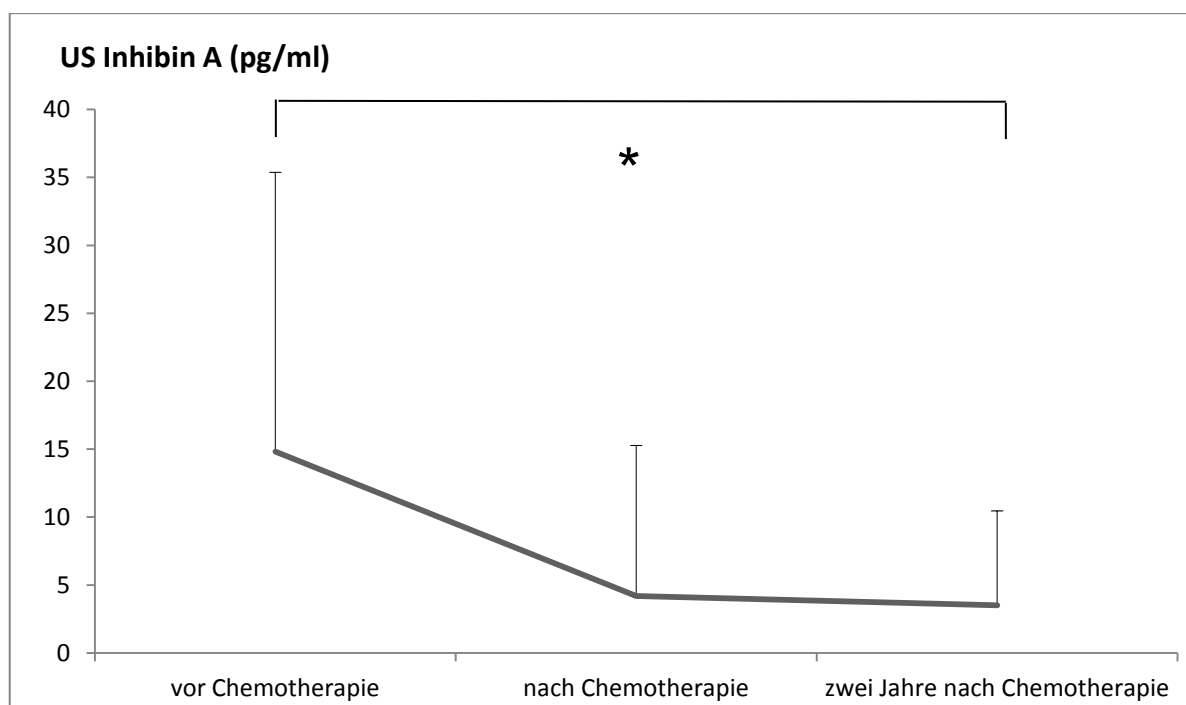


Abbildung 7. Zeitlicher Verlauf der serologischen Inhibin A-Konzentrationen in pg/ml im ultrasensitiven Nachweis im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie.

Im Friedman-Test zeigten sich für die Inhibin A-Serumkonzentrationen im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) hoch signifikante Unterschiede zwischen den drei Zeitpunkten (* $p=0,007$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.1.3 Vergleich der einzelnen Zeitpunkte untereinander in Bezug auf Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) (Wilcoxon-Test)

Mit Hilfe des Friedman-Tests konnte bereits festgestellt werden, dass sich die Inhibin A-Konzentrationen im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) zu den verschiedenen Messzeitpunkten signifikant unterscheiden (**Abbildung 7, Seite 30**). Beim Vergleich der einzelnen Zeitpunkte untereinander mittels Wilcoxon-Test zeigte die US Inhibin A-Konzentration eine signifikante Abnahme zwischen den Zeitpunkten 1, vor Chemotherapie, und 2, vier Wochen nach Chemotherapie, mit einer Signifikanz von $p=0,01$. Zwischen den Zeitpunkten 1, vor Chemotherapie, und 3, zwei Jahre nach Chemotherapie, zeigte sich sogar ein höchst signifikanter Abfall ($p=0,001$) (**Abbildung 8**). Interessanterweise gab es zwischen Zeitpunkt 2 und Zeitpunkt 3, also vier Wochen und zwei Jahre nach Chemotherapie, keine signifikanten Unterschiede ($p=0,968$).

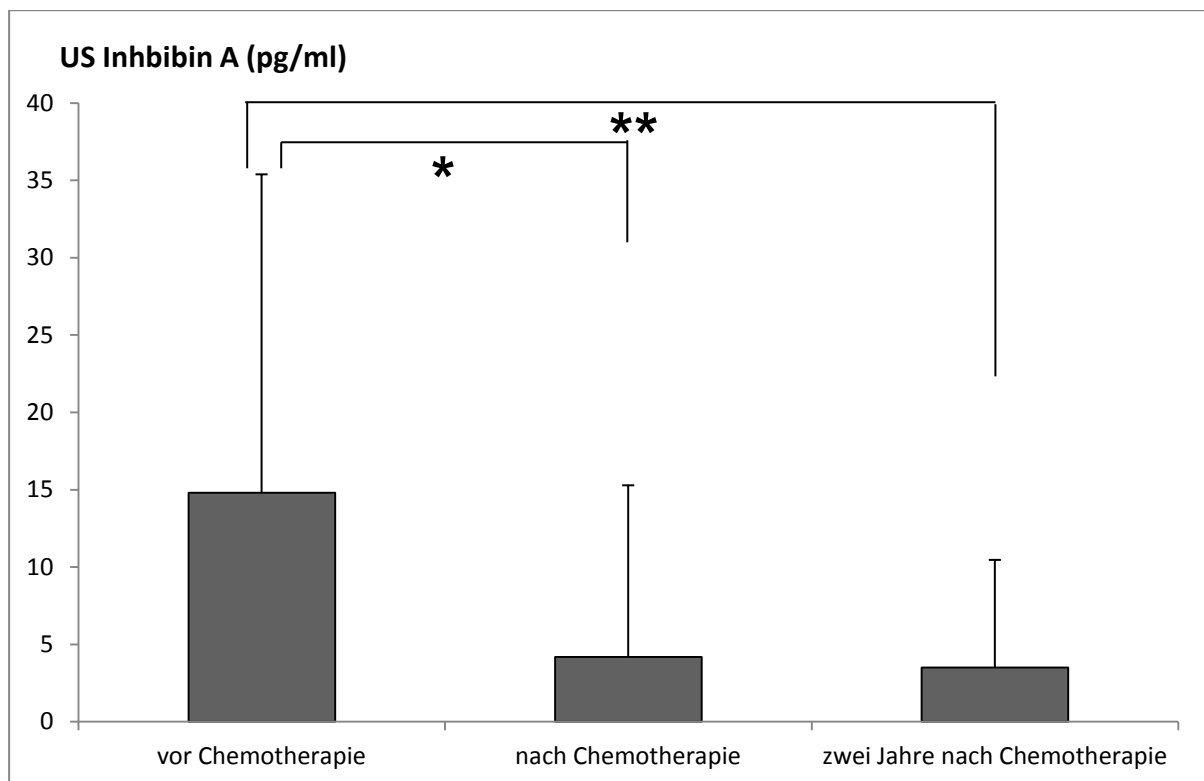


Abbildung 8. Serologische Inhibin A-Konzentration im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) bei Patientinnen mit Zustand nach Mammakarzinom im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie.

Die US Inhibin A-Konzentration zeigte eine signifikante Abnahme zwischen den Zeitpunkten 1 und 2, vor und vier Wochen nach Chemotherapie (* $p=0,01$) sowie zwischen den Zeitpunkten 1 und 3, vor und zwei Jahre nach Chemotherapie (** $p=0,001$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.1.4 Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) in Bezug auf das Patientinnenalter (Mann-Whitney-Test)

Beim Vergleich der zwei Altersgruppen bezogen auf den Median von 52 Jahren mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests für zwei unabhängige Stichproben ergab sich für Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) zum Zeitpunkt vor Chemotherapie ein höchst signifikantes Ergebnis mit $p < 0,001$. Die US Inhibin A-Konzentration lag bei der Altersgruppe unter 52 Jahren bei 25,91 pg/ml und somit signifikant höher als bei den Patientinnen, die älter waren als 52 Jahre (5,79 pg/ml) (**Abbildung 9**).

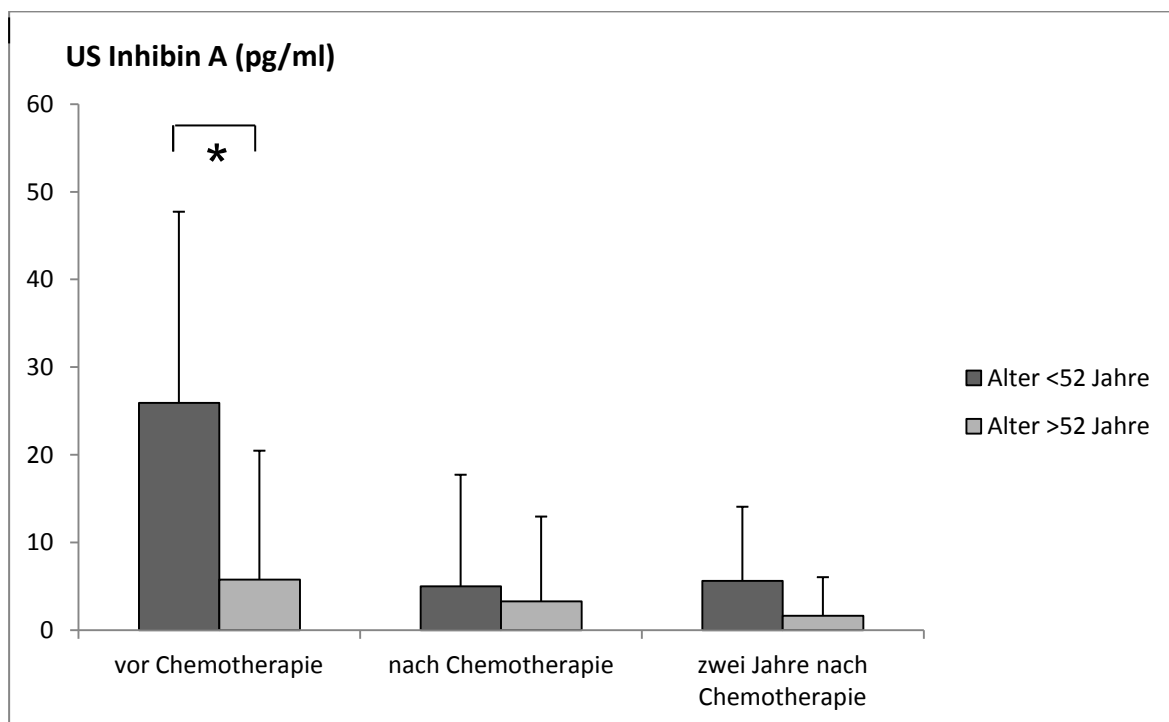


Abbildung 9. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Inhibin A-konzentrationen im ultrasensitiven Nachweis in Bezug auf das Patientinnenalter bezogen auf den Median von 52 Jahren.

US Inhibin A war zum Zeitpunkt 1, vor Chemotherapie, bei den Patientinnen unter 52 Jahren signifikant höher als bei den Patientinnen, die älter waren als 52 Jahre (* $p < 0,001$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.1.5 Inhibin A in Bezug auf den Menopausenstatus (Mann-Whitney-Test)

Mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests konnte gezeigt werden, dass die Inhibin A-Konzentration bei den prämenopausalen Chemotherapiepatientinnen zum Zeitpunkt vor Chemotherapie mit einer Signifikanz von $p=0,01$ höher war als bei den postmenopausalen Patientinnen. Der Serumwert lag bei 144,95 ng/ml bei den prämenopausalen und bei 115,11 ng/ml bei den postmenopausalen Patientinnen. Interessanterweise unterschieden sich die Inhibin A-Konzentrationen nur vor Beginn der Chemotherapie, nach der Chemotherapie zeigten sich diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede in der Inhibin A-Konzentration mehr (**Abbildung 10**).

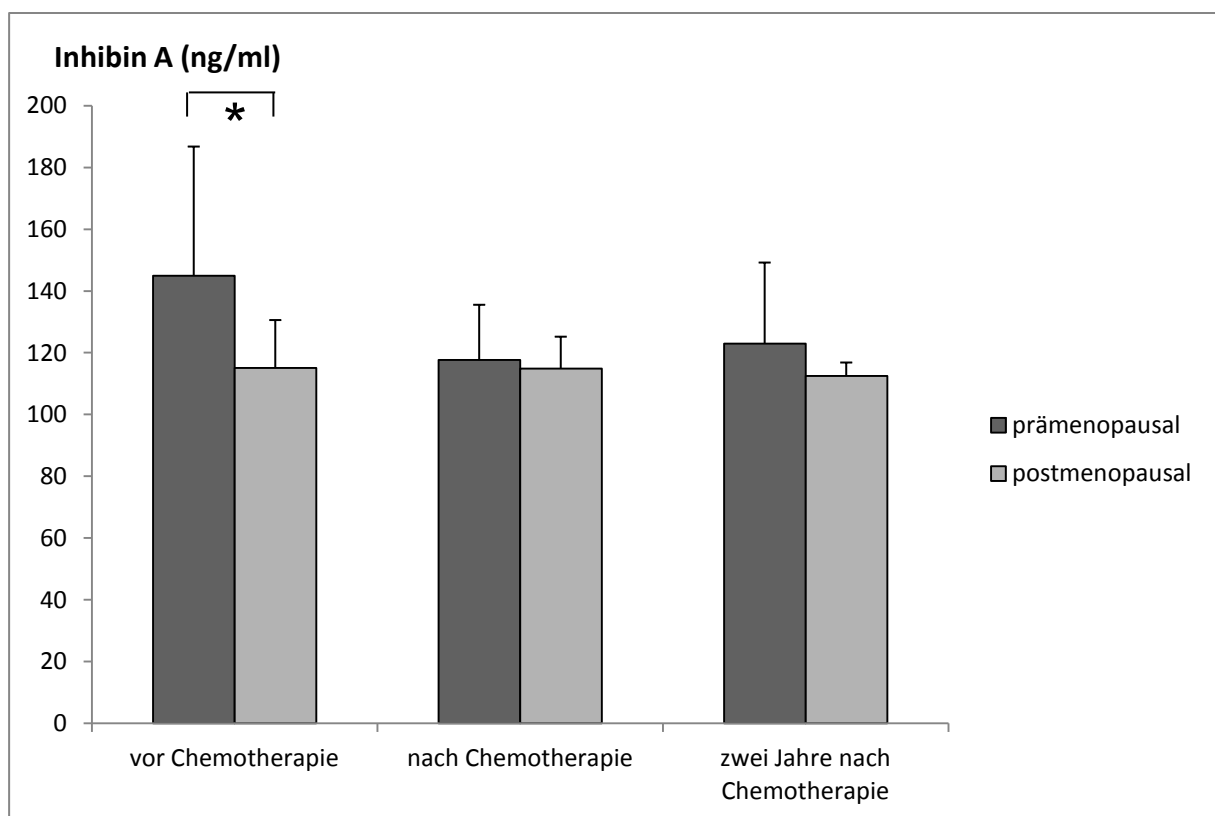


Abbildung 10. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Inhibin A-Konzentrationen in Bezug auf den Menopausenstatus.

Die Inhibin A-Konzentration zum Zeitpunkt 1, vor Chemotherapie, war bei den prämenopausalen Patientinnen signifikant höher als bei den postmenopausalen (* $p=0,01$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.1.6 Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A) in Bezug auf den Menopausenstatus (Mann-Whitney-Test)

Im ultrasensitiven Inhibin A-Nachweis (US Inhibin A) zeigte sich beim Vergleich des Menopausenstatus zum Zeitpunkt vor Chemotherapie ein höchst signifikantes Ergebnis mit einem p-Wert von $< 0,001$. Die Konzentration lag bei den prämenopausalen Patientinnen mit 25,89 pg/ml signifikant höher als bei den postmenopausalen (1,17 pg/ml). Auch hier unterscheidet sich die US Inhibin A-Serumkonzentration erwartungsgemäß nur vor der Chemotherapie (**Abbildung 11**).

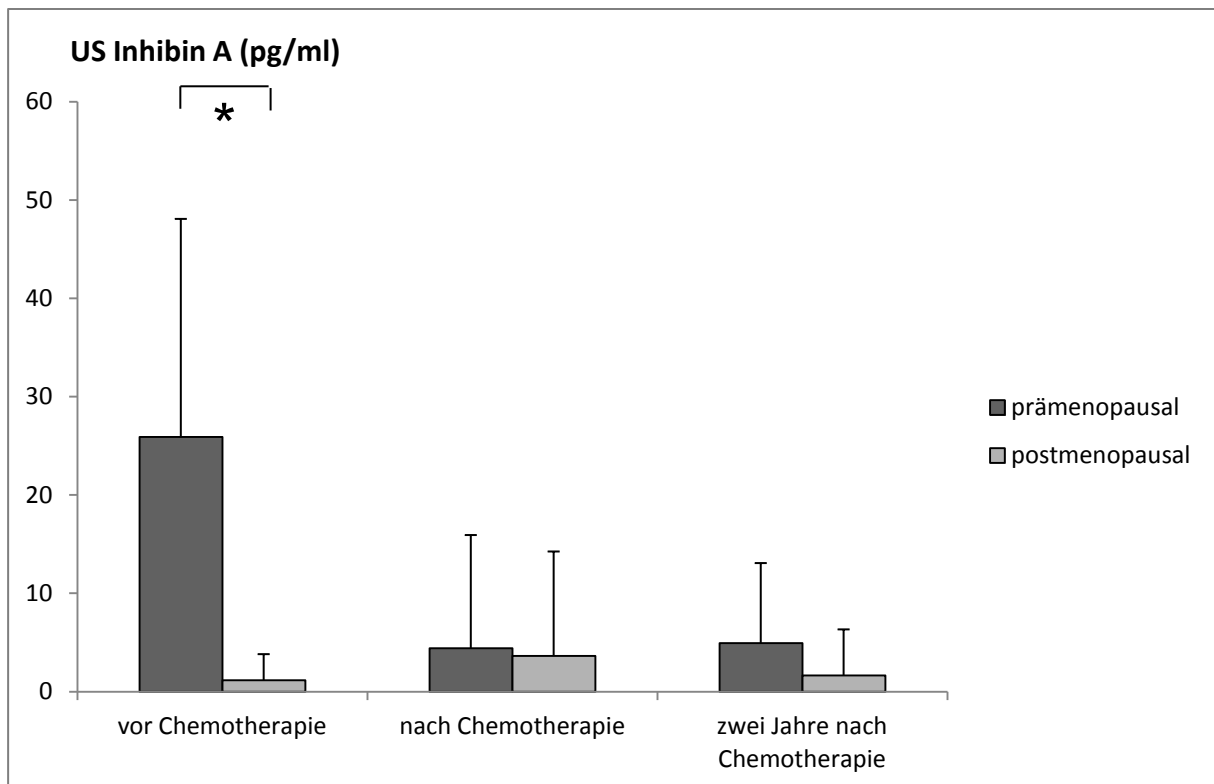


Abbildung 11. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Inhibin A-Konzentrationen (ultrasensitiver Nachweis) in Bezug auf den Menopausenstatus.

Im ultrasensitiven Nachweis zeigte die Inhibin A-Konzentration (US Inhibin A) zum Zeitpunkt vor Chemotherapie einen höchst signifikant höheren Wert bei den prämenopausalen Patientinnen im Vergleich zu den postmenopausalen (* $p < 0,001$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.1.7 Inhibin A in Bezug auf die Amenorrhö (Mann-Whitney-Test)

Zum Zeitpunkt 2, vier Wochen nach Chemotherapie, zeigten sich für die Inhibin A-Serumkonzentration signifikante Unterschiede zwischen den Patientinnen, die eine Amenorrhö hatten und denen, die keine Amenorrhö entwickelten mit einem p-Wert von 0,045. Die Inhibin A-Serumkonzentration lag vier Wochen nach Chemotherapie bei den Patientinnen mit Amenorrhö niedriger (114,99 ng/ml) als bei den Frauen, die weiterhin menstruierten (127,94 ng/ml) (**Abbildung 12**).

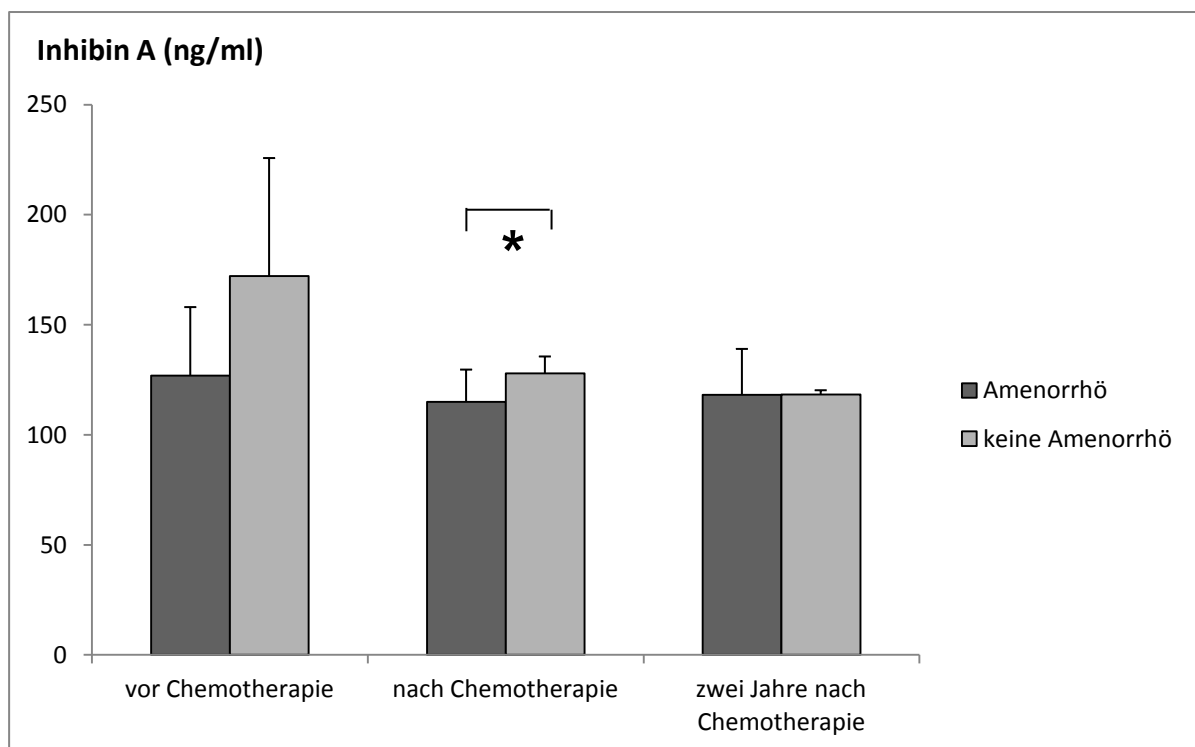


Abbildung 12. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Inhibin A-konzentrationen in Bezug auf die Amenorrhö.

Die Inhibin A-Serumkonzentration zum Zeitpunkt 2, vier Wochen nach Chemotherapie, war bei den Patientinnen mit Amenorrhö signifikant niedriger (* $p=0,045$) als bei den Patientinnen ohne Amenorrhö. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.1.8 Inhibin A in Bezug auf das Chemotherapieschema (Mann-Whitney-Test)

Beim Vergleich der Inhibin-Serumkonzentrationen konnte für Inhibin A zum Zeitpunkt vor Chemotherapie ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Chemotherapiearmen erhoben werden ($p=0,044$). Die Werte lagen in der Randomisierungsgruppe FEC-DG, also dem Chemotherapieschema mit Gemcitabin mit einem Wert von 152,30 ng/ml höher als in der Randomisierungsgruppe FEC-DOC ohne Gemcitabin mit einem Wert von 118,90 ng/ml (**Abbildung 13**).

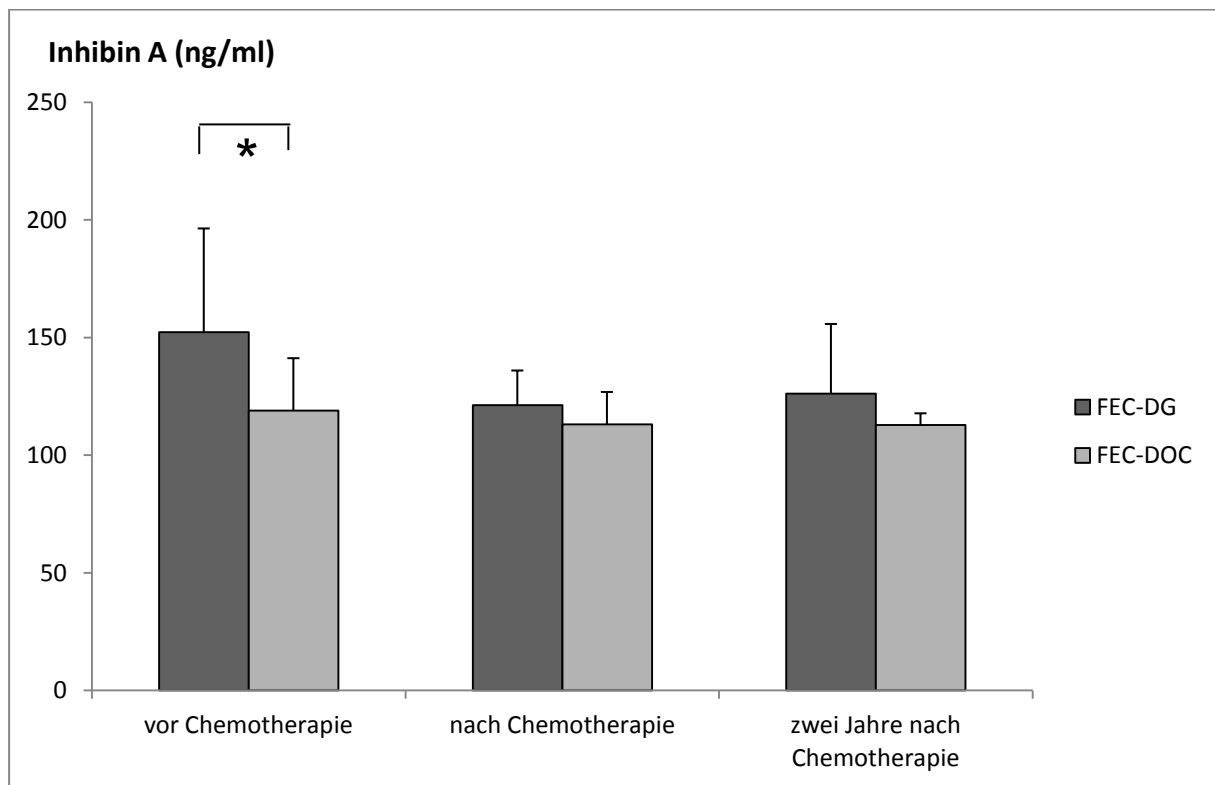


Abbildung 13. Vergleich der Mittelwerte der Inhibin A-Serumkonzentrationen in Bezug auf die beiden Chemotherapieschemata.

Signifikante Unterschiede zeigten sich bei Inhibin A zum Zeitpunkt vor Chemotherapie (* $p= 0,044$). In der Randomisierungsgruppe FEC-DG mit Gemcitabin lagen die Werte höher als in der Randomisierungsgruppe FEC-DOC ohne Gemcitabin. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

FEC-DG: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 75mg/m² und Gemcitabin 1000mg/m² i.v. KOF d1,8 q3w x 3

FEC-DOC: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 100mg/m² i.v. KOF q3w x 3

3.2.1.9 Inhibin A in Bezug auf die Trastuzumabtherapie (Herceptin®) (Mann-Whitney-Test)

Beim Vergleich der Inhibin-Serumkonzentrationen in Bezug auf die Therapie mit dem Antikörper Trastuzumab (Herceptin®) ergab sich für Inhibin A zum Zeitpunkt vor Chemotherapie ein signifikantes Ergebnis ($p=0,041$). Die Inhibin A-Serumkonzentration lag bei den Patientinnen, die Trastuzumab erhielten, signifikant höher (151,48 ng/ml) als bei den Patientinnen ohne Trastuzumabtherapie (126,38 ng/ml) (**Abbildung 14**).

In Bezug auf Her2/neu-Status, Hormonrezeptorstatus, Therapie mit Tamoxifen, Goserelin und Anastrozol, Körpergröße und -gewicht sowie Tumorgroße ergaben sich für Inhibin A sowohl im normalen als auch im ultrasensitiven Nachweis keine signifikanten Ergebnisse. Auf eine graphische Darstellung wurde daher verzichtet. Die nicht-signifikanten Ergebnisse von Inhibin A und US Inhibin A finden sich in tabellarischer Form im Anhang (**Tabelle 5-8, Seite 88-91**).

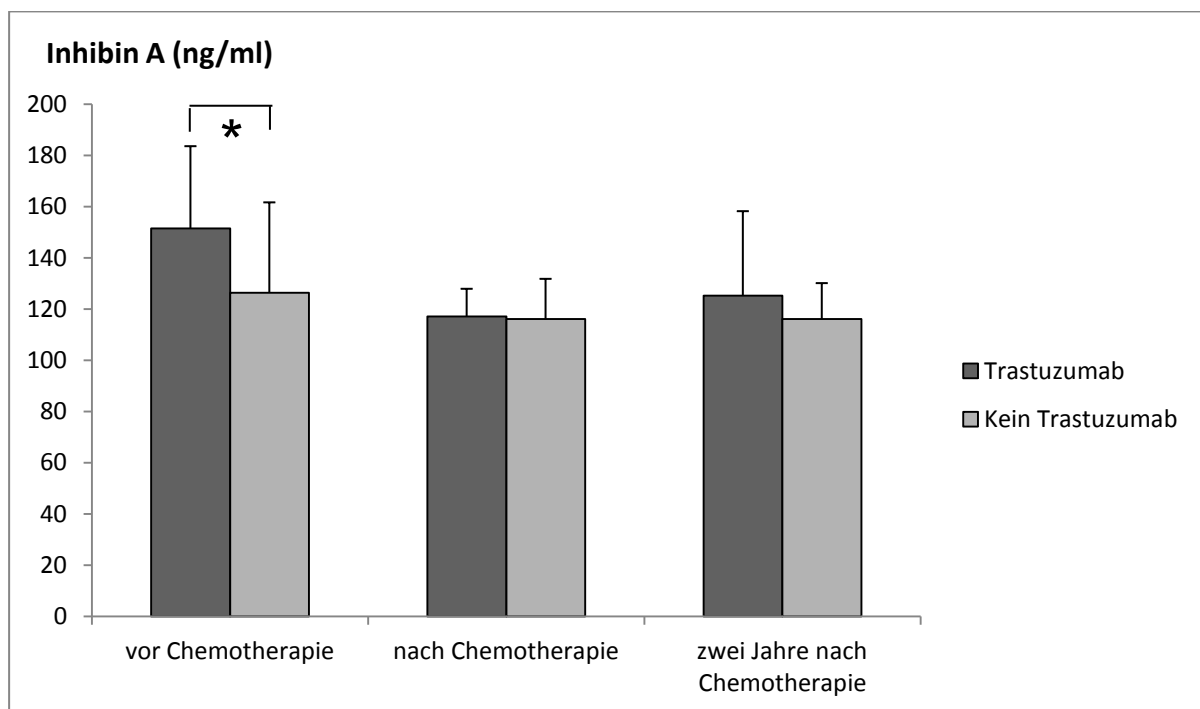


Abbildung 14. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Inhibin A-konzentrationen in Bezug auf die Antikörpertherapie mit Trastuzumab.

Inhibin A war zum Zeitpunkt 1, vor Chemotherapie, bei den Patientinnen, die Trastuzumab erhielten, signifikant höher als bei den Patientinnen ohne Trastuzumabtherapie (* $p=0,041$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.2 Inhibin B

3.2.2.1 Zeitlicher Verlauf von Inhibin B

Die mittlere Konzentration von Inhibin B fiel vier Wochen nach Chemotherapie nur leicht ab von einer prächemotherapeutischen Konzentration von 38,61 ($\pm 57,52$) pg/ml auf 36,38 ($\pm 59,17$) pg/ml. Zwei Jahre nach Chemotherapie zeigte sich ein stärkerer Abfall der Inhibin B-Konzentration auf 13,90 ($\pm 21,09$) pg/ml. Diese Abnahme der Inhibin B-Serumkonzentration im zeitlichen Verlauf war jedoch ohne Signifikanz ($p=0,518$) (**Abbildung 15**).

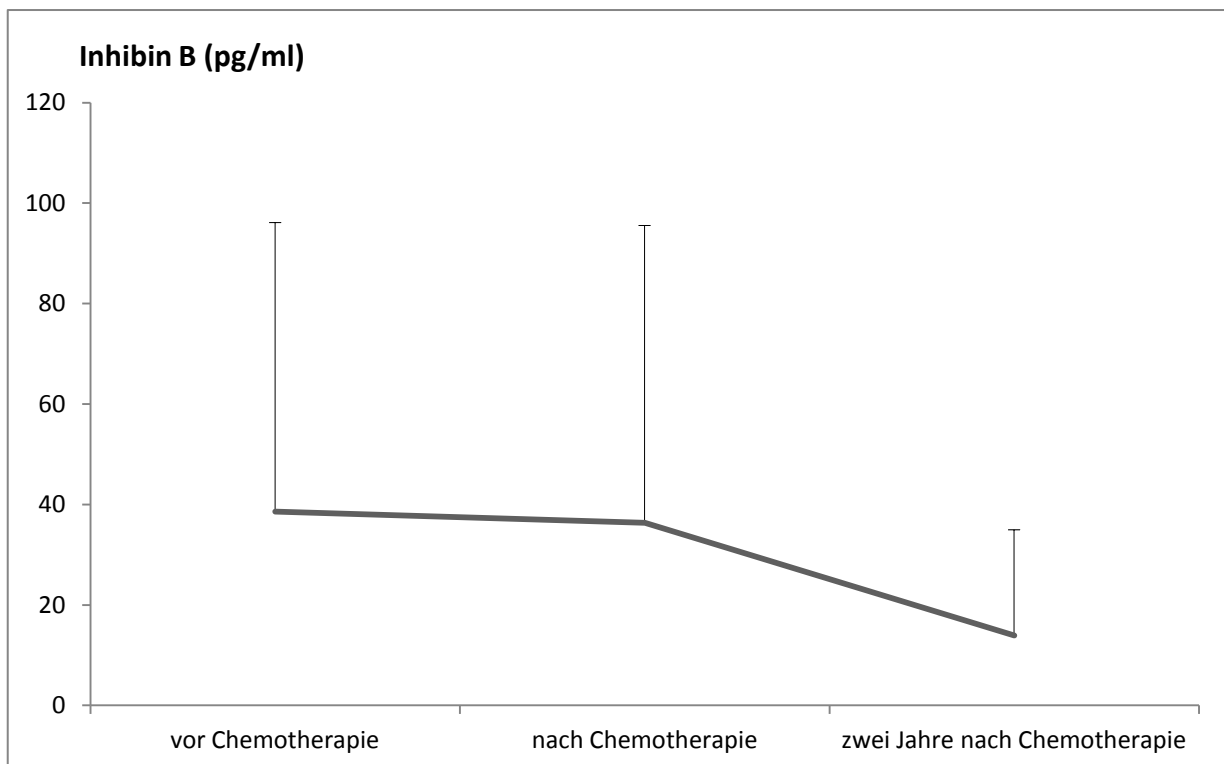


Abbildung 15. Zeitlicher Verlauf der serologischen Inhibin B-Konzentrationen in pg/ml im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie.

Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.2.2 Inhibin B in Bezug auf das Patientinnenalter (Mann-Whitney-Test)

Beim Vergleich des Patientinnenalters bezogen auf den Median von 52 Jahren lag die Inhibin B-Serumkonzentration bei den jüngeren Patientinnen unter 52 Jahren vor Chemotherapie signifikant höher (48,47 pg/ml) als bei den älteren Patientinnen (30,60 pg/ml). Der p-Wert lag bei 0,05 (**Abbildung 16**).

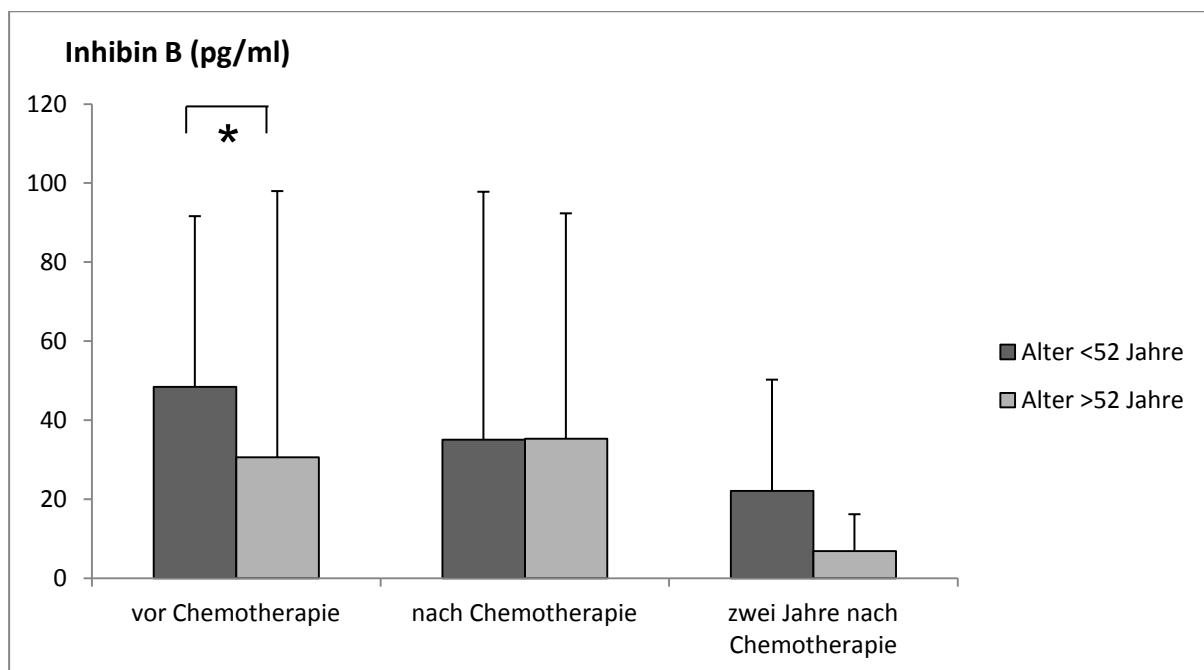


Abbildung 16. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Inhibin B-konzentrationen in Bezug auf das Patientinnenalter bezogen auf den Median von 52 Jahren.

Inhibin B war zum Zeitpunkt 1, vor Chemotherapie, bei den Patientinnen unter 52 Jahren signifikant höher als bei den Patientinnen, die älter waren als 52 Jahre (* p=0,05). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.2.3 Inhibin B in Bezug auf den Menopausenstatus (Mann-Whitney-Test)

Für die Inhibin B-Serumkonzentration konnte in Bezug auf den Menopausenstatus zum Zeitpunkt 3, zwei Jahre nach Chemotherapie, ein signifikantes Ergebnis mit einem p-Wert von 0,028 erhoben werden. Bei den prämenopausalen Patientinnen lag die serologische Inhibin B-Konzentration im zweijährigen Follow-up nach Chemotherapie mit 21,05 pg/ml höher als bei den postmenopausalen (4,78 pg/ml) (**Abbildung 17**).

Beim Vergleich der Inhibin B-Konzentration in Bezug auf die Parameter Amenorrhö, Chemotherapieschema, Her2/neu-Status, Trastuzumabtherapie, Hormonrezeptorstatus, Therapie mit Tamoxifen, Goserelin und Anastrozol, Körpergröße und -gewicht sowie Tumorgroße ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse. Die Werte sind tabellarisch im Anhang dargestellt (**Tabelle 9-10, Seite 92-93**). Auf eine graphische Darstellung wurde verzichtet.

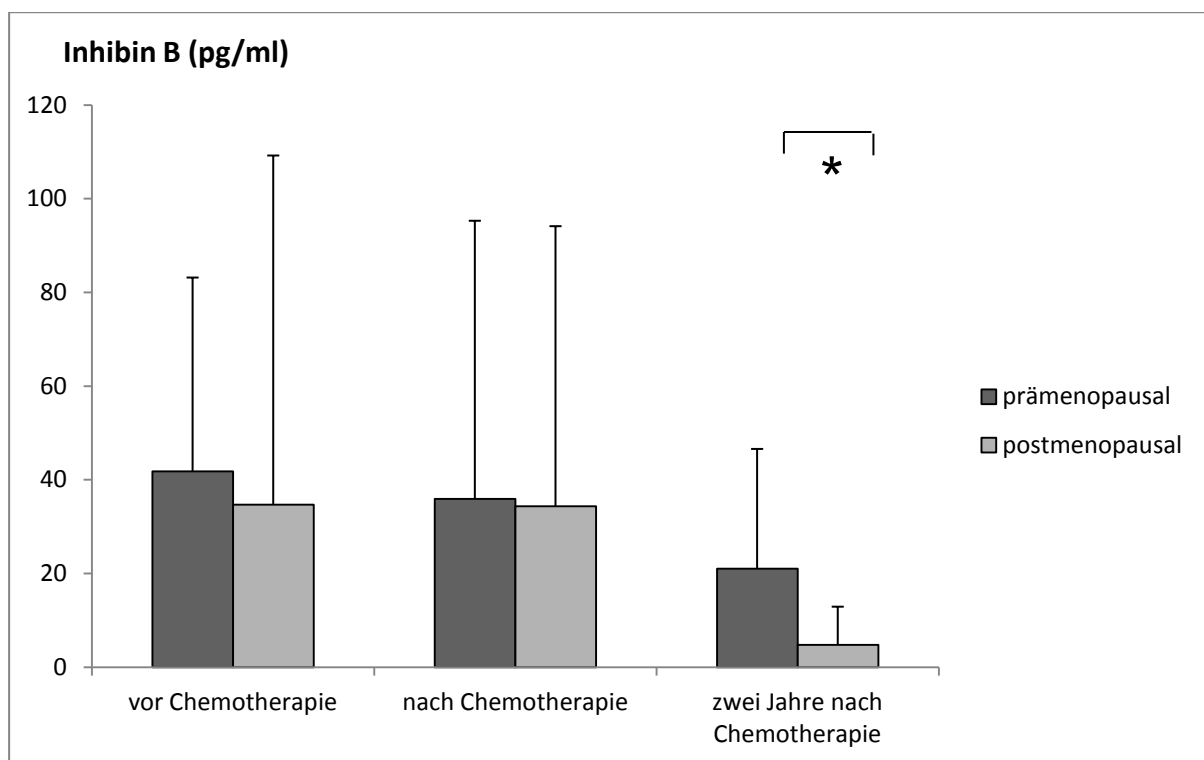


Abbildung 17. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Inhibin B-Konzentrationen in Bezug auf den Menopausenstatus.

Die Inhibin B-Konzentration zum Zeitpunkt 3, zwei Jahre nach Chemotherapie, war bei den prämenopausalen Patientinnen signifikant höher als bei den postmenopausalen (* p=0,028). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.3 Activin A

3.2.3.1 Zeitlicher Verlauf von Activin A

Die Activin A-Serumkonzentration stieg vier Wochen nach Chemotherapie leicht an und betrug 40,91 ($\pm 21,28$) ng/ml vor Chemotherapie und 42,98 ($\pm 23,06$) ng/ml vier Wochen danach. Zwei Jahre nach Chemotherapie zeigt diese dann einen leichten Abfall auf 37,11 ($\pm 20,74$) ng/ml jedoch ohne Signifikanz ($p=0,279$) (**Abbildung 18**).

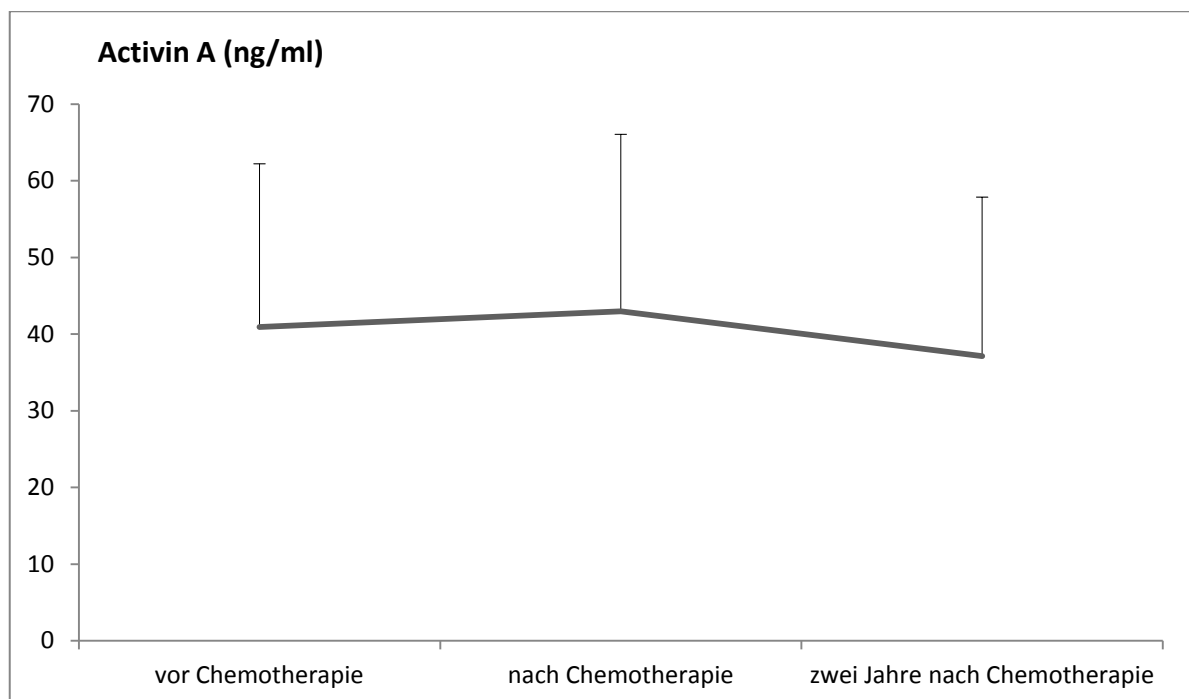


Abbildung 18. Zeitlicher Verlauf der serologischen Activin A-Konzentrationen in ng/ml im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie.

Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.3.2 Activin A in Bezug auf das Chemotherapieschema (Mann-Whitney-Test)

Beim Vergleich der beiden Chemotherapierandomisierungsgruppen ergab sich für die Activin A-Serumkonzentration mit $p=0,024$ ein signifikantes Ergebnis. Activin A lag beim Chemotherapieschema FEC-DG mit Gemcitabin vier Wochen nach Chemotherapie höher (53,37 ng/ml) als beim Schema ohne Gemcitabin FEC-DOC (39,57 ng/ml) (**Abbildung 19**).

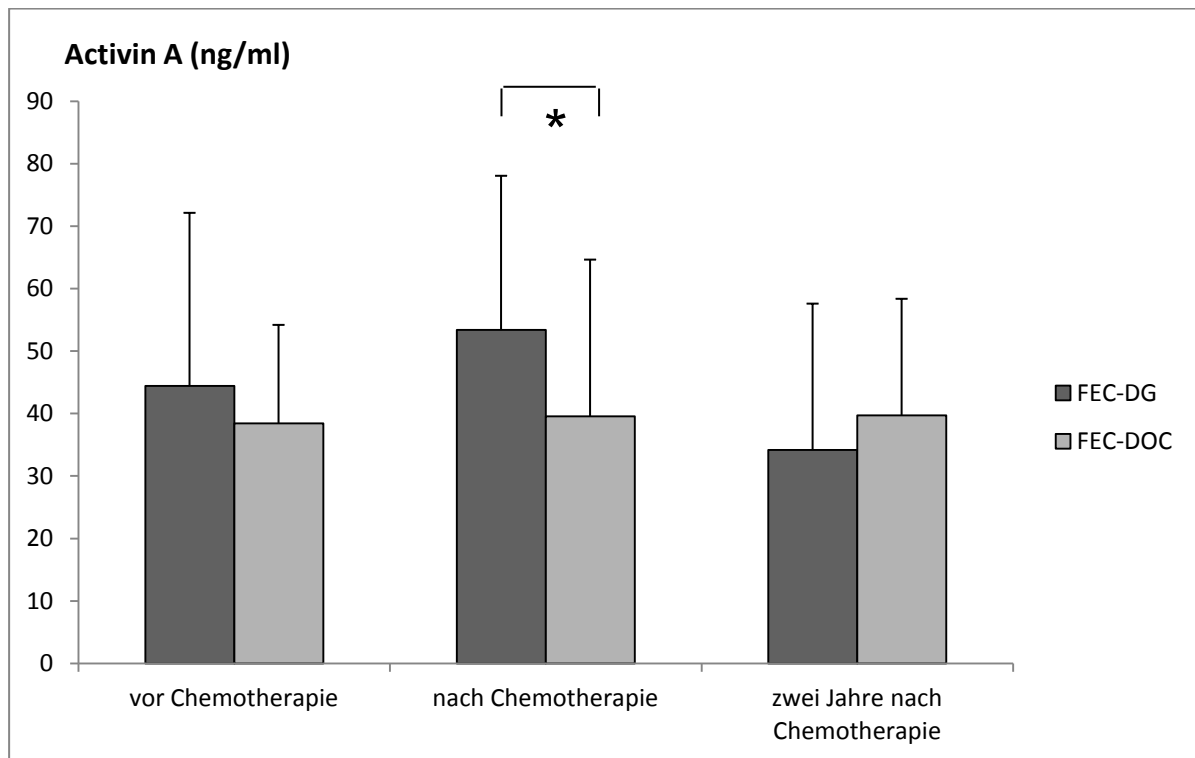


Abbildung 19. Vergleich der Mittelwerte der Activin A-Serumkonzentrationen in Bezug auf die Chemotherapie.

Die Activin A-Konzentration zum Zeitpunkt vier Wochen nach Chemotherapie lag in der Randomisierungsgruppe FEC-DG mit Gemcitabin signifikant höher als in der Randomisierungsgruppe FEC-DOC ohne Gemcitabin (* $p=0,024$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

FEC-DG: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 75mg/m² und Gemcitabin 1000mg/m² i.v. KOF d1,8 q3w x 3

FEC-DOC: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 100mg/m² i.v. KOF q3w x 3.

3.2.3.3 Activin A in Bezug auf den Her2/neu-Status (Mann-Whitney-Test)

Der Her2/neu-Status ist ein wichtiger Prognoseparameter für das Mammakarzinom. Die Activin A-Serumkonzentration zeigte vier Wochen nach Chemotherapie ein signifikantes Ergebnis mit $p=0,045$ beim Vergleich zwischen Patientinnen mit Her2/neu-positiv und Her2/neu-negativ diagnostizierten Tumoren. Die Activin A-Konzentration war bei positivem Her2/neu-Status höher (54,79 ng/ml) als bei negativem Her2/neu-Status (40,24 ng/ml) (**Abbildung 20**).

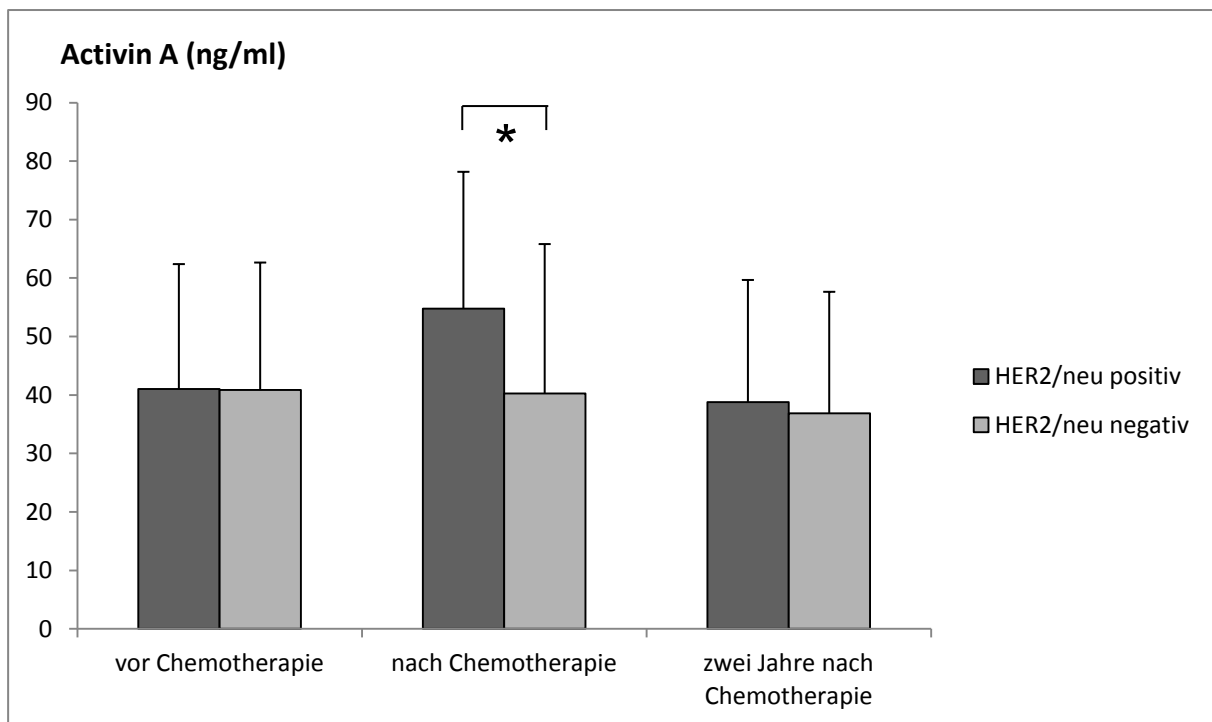


Abbildung 20. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Activin A-Konzentrationen in Bezug auf den Her2/neu-Status.

Die Activin A-Konzentration zeigte beim Vergleich der Mittelwerte in Bezug auf den Wachstumsfaktorrezeptor Her2/neu mit $*p=0,045$ zum Zeitpunkt vier Wochen nach Chemotherapie signifikant höhere Werte bei den Her2/neu-positiven Patientinnen als bei den Her2/neu-negativen Patientinnen. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.3.4 Activin A in Bezug auf die Trastuzumabtherapie (Herceptin®) (Mann-Whitney-Test)

Vier Wochen nach Chemotherapie lagen die Activin A-Konzentrationen bei den Patientinnen, die eine Antikörpertherapie mit Trastuzumab erhielten, signifikant höher (64,57 ng/ml) als bei den Patientinnen, bei denen keine Antikörpertherapie erfolgte (39,16 ng/ml). Der p-Wert betrug 0,004 (**Abbildung 21**).

Beim Vergleich der Parameter Patientinnenalter, Menopausenstatus, Amenorrhö, Hormonrezeptorstatus, Therapie mit Tamoxifen, Goserelin und Anastrozol, Körpergröße und Gewicht sowie Tumorgröße ergaben sich für Activin A keine signifikanten Ergebnisse, daher wurde auf eine graphische Darstellung verzichtet. Die nicht-signifikanten Ergebnisse finden sich in tabellarischer Form im Anhang (**Tabelle 11-12, Seite 94-95**).

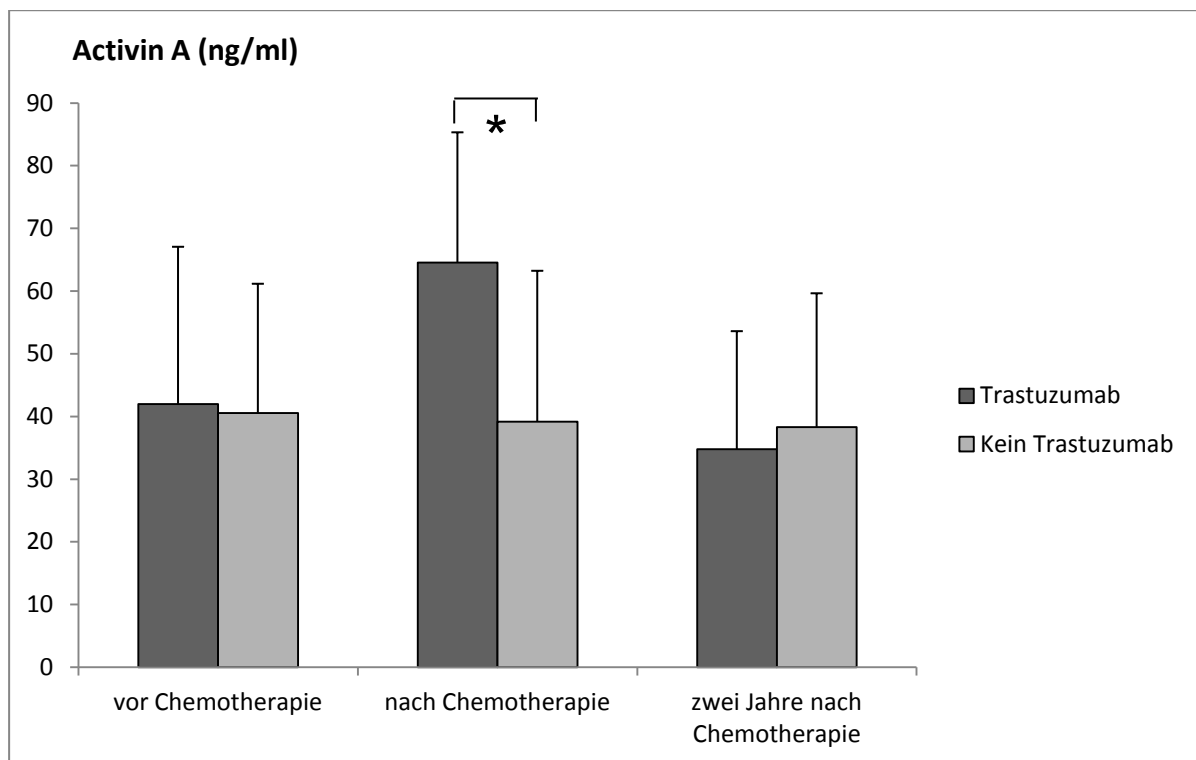


Abbildung 21. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Activin A Konzentrationen in Bezug auf die Antikörpertherapie mit Trastuzumab.

Activin A war zum Zeitpunkt 2, vier Wochen nach Chemotherapie, bei den Patientinnen, die Trastuzumab erhielten, signifikant höher als bei den Patientinnen ohne Trastuzumabtherapie (* p=0,004). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.4 Activin B

3.2.4.1 Zeitlicher Verlauf von Activin B

Die mittlere Activin B-Konzentration im Serum zeigte eine stetige, jedoch nicht signifikante Abnahme im Verlauf der drei Zeitpunkte ($p=0,648$). Vor der Chemotherapie lag sie bei 30,61 ($\pm 44,49$) ng/ml, vier Wochen nach Chemotherapie bei 26,86 ($\pm 34,07$) ng/ml und zwei Jahre danach bei 23,49 ($\pm 26,44$) ng/ml (**Abbildung 22**).

Für Activin B konnten im Rahmen dieser Arbeit keine signifikanten Ergebnisse in Bezug auf Patientinnenalter, Menopausenstatus, Amenorrhö, Chemotherapieschema, Her2/neu-Status, Trastuzumabtherapie, Hormonrezeptorstatus, Therapie mit Tamoxifen, Goserelin und Anastrozol, Körpergröße und -gewicht sowie Tumorgröße erhoben werden. Daher wurde auf eine graphische Darstellung verzichtet und die Ergebnisse in tabellarischer Form im Anhang dargestellt (**Tabelle 13-14, Seite 96-97**).

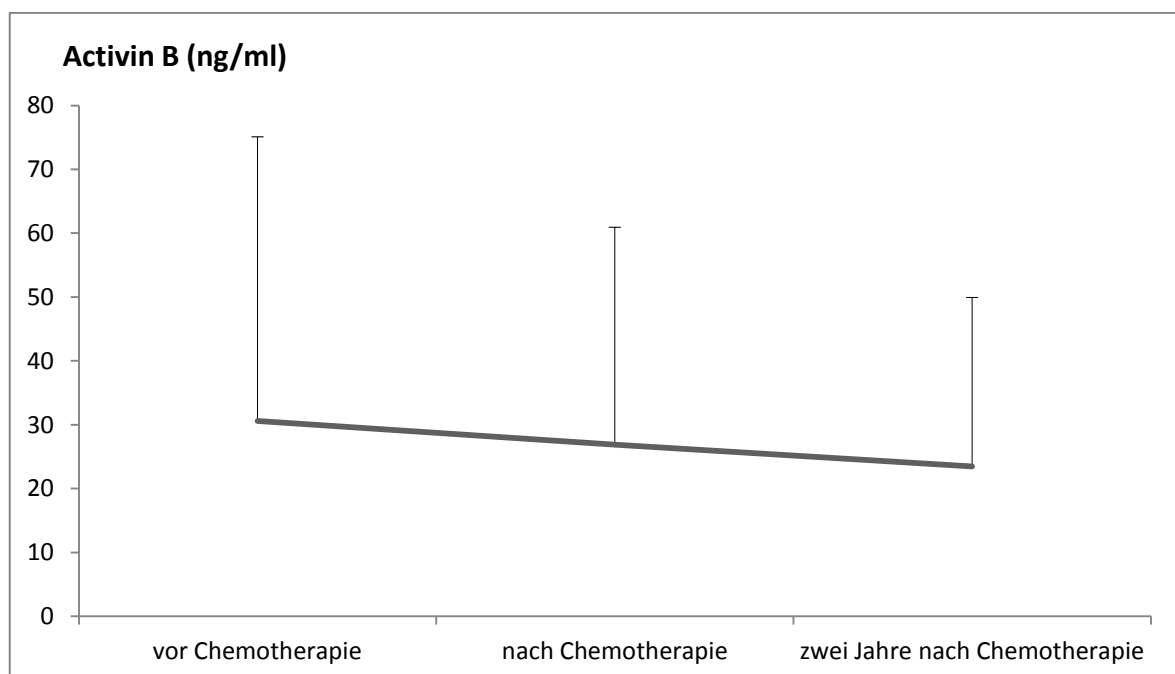


Abbildung 22. Zeitlicher Verlauf der serologischen Activin B-Konzentrationen in ng/ml im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie.

Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.5 Activin AB

3.2.5.1 Zeitlicher Verlauf von Activin AB

Auch die Activin AB-Serumkonzentration zeigte einen minimalen, jedoch stetigen, nicht signifikanten Abfall im zeitlichen Verlauf ($p=0,965$). Während sie vor Chemotherapie bei 83,80 ($\pm 98,22$) ng/ml lag, sank sie vier Wochen nach Abschluss der Chemotherapie auf 81,15 ($\pm 102,77$) ng/ml und zwei Jahre nach Chemotherapie auf 78,95 ($\pm 89,21$) ng/ml (**Abbildung 23**).

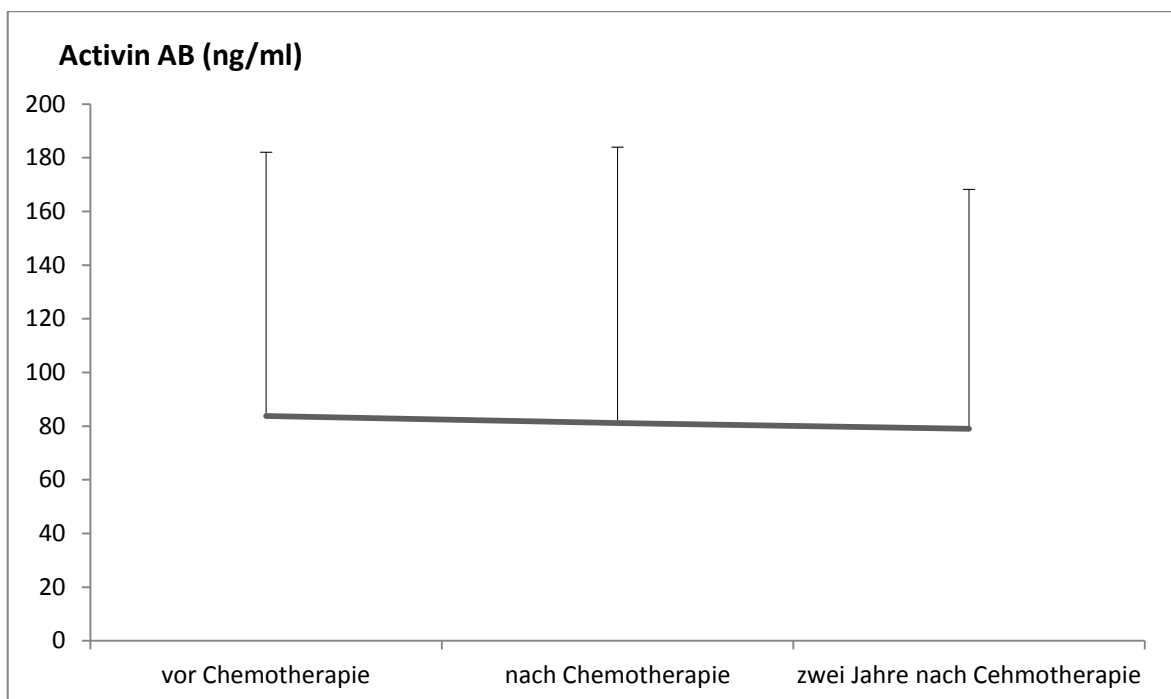


Abbildung 23. Zeitlicher Verlauf der serologischen Activin AB-Konzentrationen in ng/ml im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie.

Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.5.2 Activin AB in Bezug auf den Menopausenstatus (Mann-Whitney-Test)

Für die Activin AB-Serumkonzentration ergab sich beim Vergleich des Menopausenstatus mit $p=0,037$ ein signifikantes Ergebnis zum Zeitpunkt 2, zwei Jahre nach Chemotherapie. Die Activin AB-Serumkonzentration war zwei Jahre nach Abschluss der Chemotherapie bei den postmenopausalen Frauen signifikant höher (115,21 ng/ml) als bei den prämenopausalen (51,75 ng/ml) (**Abbildung 24**).

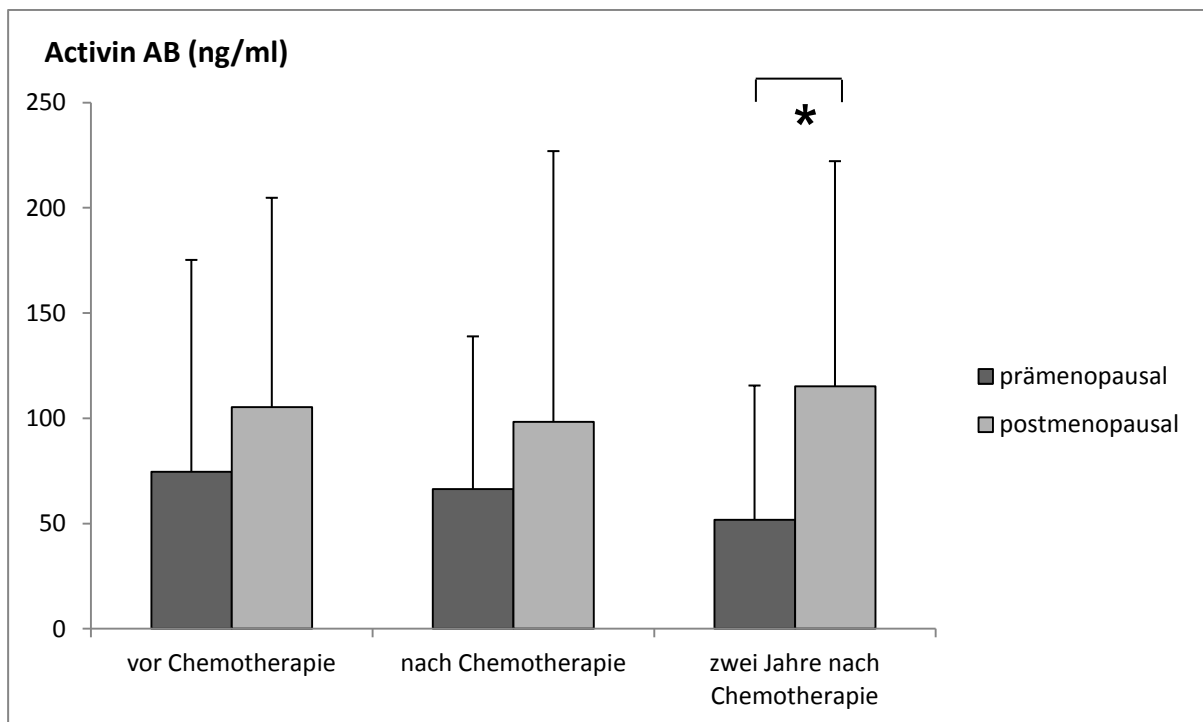


Abbildung 24. Vergleich der Mittelwerte der Activin AB-Serumkonzentrationen in Bezug auf den Menopausenstatus.

Bei der Activin AB-Konzentration zum Zeitpunkt zwei Jahre nach Chemotherapie zeigten sich bei den postmenopausalen Patientinnen signifikant höhere Werte als bei den prämenopausalen (* $p=0,037$). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.5.3 Activin AB in Bezug auf die Amenorrhö (Mann-Whitney-Test)

Der Vergleich der Amenorrhö zeigte für Activin AB zum Zeitpunkt 3, zwei Jahre nach Chemotherapie, ein signifikantes Ergebnis ($p=0,019$). Die Activin AB-Serumkonzentration lag bei den Patientinnen, die eine Amenorrhö entwickelten, signifikant höher (86,82 ng/ml) als bei den Patientinnen ohne Amenorrhö (13,35 ng/ml) (**Abbildung 25**).

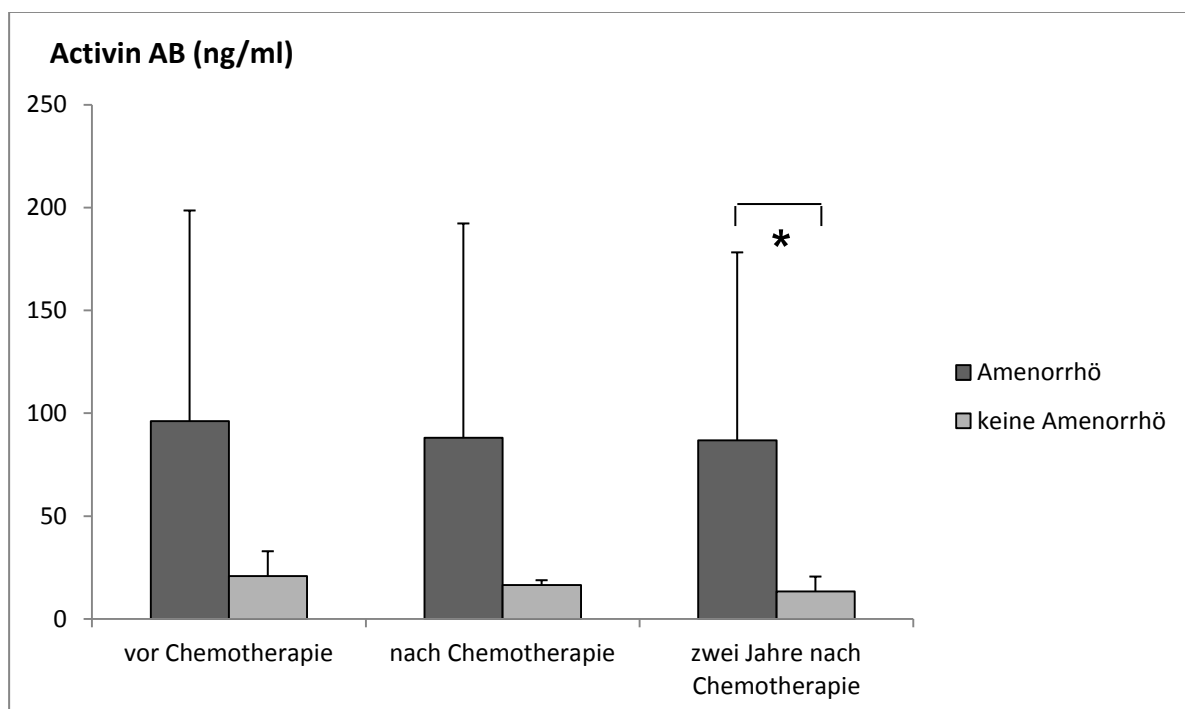


Abbildung 25. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Activin AB-Konzentrationen in Bezug auf die Amenorrhö.

Die Activin AB-Serumkonzentration zum Zeitpunkt 3, zwei Jahre nach Chemotherapie, war bei den Patientinnen mit Amenorrhö signifikant höher (* $p=0,019$) als bei den Patientinnen ohne Amenorrhö. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

3.2.5.4 Activin AB in Bezug auf das Chemotherapieschema (Mann-Whitney-Test)

Zwischen den beiden Chemotherapie-Randomisierungsgruppen FEC-DG mit Gemcitabin und FEC-DOC ohne Gemcitabin gab es vier Wochen nach Chemotherapie nicht nur signifikante Unterschiede für die Activin A-Konzentration (**Abbildung 19, Seite 42**), sondern auch für die Activin AB-Konzentration. Activin AB war zum Zeitpunkt vier Wochen nach Chemotherapie beim FEC-DG Schema ebenfalls signifikant höher (125,13 ng/ml) als beim FEC-DOC Schema (53,42 ng/ml). Der p-Wert lag bei 0,025 (**Abbildung 26**).

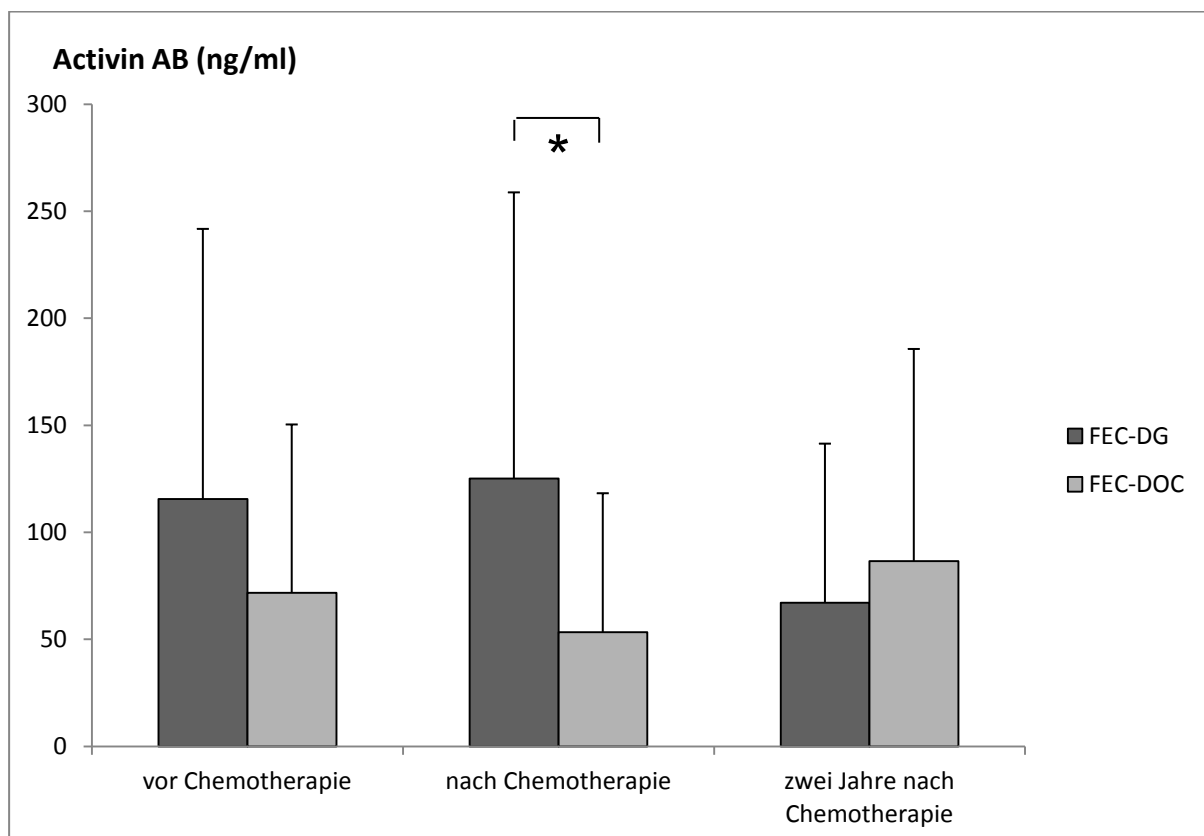


Abbildung 26. Vergleich der Mittelwerte der Activin AB-Serumkonzentrationen in Bezug auf die Chemotherapie.

Die Activin AB-Konzentration zum Zeitpunkt vier Wochen nach Chemotherapie lag in der Randomisierungsgruppe FEC-DG mit Gemcitabin signifikant höher als in der Randomisierungsgruppe FEC-DOC ohne Gemcitabin (*p=0,025). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

FEC-DG: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 75mg/m² und Gemcitabin 1000mg/m² i.v. KOF d1,8 q3w x 3

FEC-DOC: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 100mg/m² i.v. KOF q3w x 3.

3.2.5.5 Activin AB in Bezug auf den Her2/neu-Status (Mann-Whitney-Test)

Es konnte gezeigt werden, dass die Activin AB-Serumkonzentration vier Wochen nach Chemotherapie bei den Her2/neu-positiv diagnostizierten Patientinnen signifikant niedriger lag als bei den Her2/neu-negativ diagnostizierten Patientinnen ($p=0,01$). Bei den Her2/neu-positiven Frauen lag der Wert bei 32,43 ng/ml, bei den Her2/neu-negativen bei 102,30 ng/ml (**Abbildung 27**).

Für die Parameter Patientinnenalter, Trastuzumabtherapie, Hormonrezeptorstatus, Therapie mit Tamoxifen, Goserelin und Anastrozol, Körpergröße und -gewicht sowie Tumorgöße ergab sich für Activin AB kein signifikantes Ergebnis, so dass auf eine graphische Darstellung verzichtet wurde. Die nicht-signifikanten Ergebnisse finden sich in tabellarischer Form im Anhang (**Tabelle 15-16, Seite 98-99**).

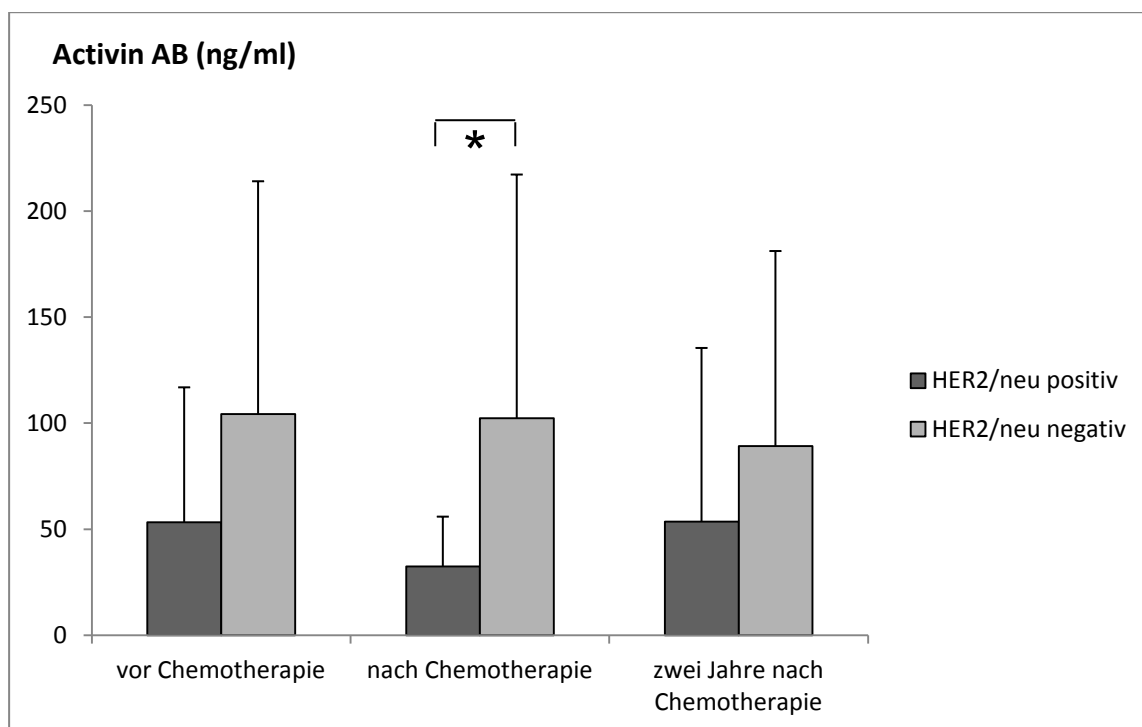


Abbildung 27. Vergleich der Mittelwerte der serologischen Activin AB-Konzentrationen in Bezug auf den Her2/neu-Status.

Die Activin AB-Konzentration zeigte beim Vergleich der Mittelwerte in Bezug auf den Wachstumsfaktorrezeptor Her2/neu mit $*p=0,01$ zum Zeitpunkt vier Wochen nach Chemotherapie signifikant höhere Werte bei den Her2/neu-negativen Patientinnen als bei den Her2/neu-positiven Patientinnen. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der Mittelwerte.

4 Diskussion

4.1 Allgemein

Das Mammakarzinom ist die häufigste maligne Erkrankung der Frau und eine der Hauptursachen für die weibliche Mortalität in der westlichen Bevölkerung [1]. Die wichtigsten prognostischen Faktoren sind die TNM-Klassifikation sowie molekularbiologische Tumoreigenschaften [1, 47, 48]. Die Therapie des Mammakarzinoms ist eine Kombinationstherapie aus Operation, Radiatio, Chemo-, Hormon- und Antikörpertherapie [62, 64]. Die Indikation zur adjuvanten Chemotherapie wird abhängig von verschiedenen Kriterien wie Zustand und Alter der Patientin, der Tumorklassifikation (Tumorgroße, Histologie, Grading, Hormonrezeptorstatus) und vor allem der Risikoeinteilung nach St. Gallen gestellt [62, 64]. Eine von vielen möglichen Nebenwirkungen der Chemotherapie ist die Gonadotoxizität mit ovarieller Dysfunktion, Amenorrhö und Sterilität [158]. Da bereits junge, prämenopausale Frauen vor Abschluss der Familienplanung an einem Mammakarzinom erkranken, eine adjuvante Chemotherapie erhalten und geheilt werden [2], spielt das Thema der chemotherapiebedingten Amenorrhö und Sterilität eine bedeutende Rolle und die Nachfrage nach geeigneten Untersuchungsmethoden für die ovarielle Reserve steigt. Trotz vielfacher Forschung gibt es bisher kaum nichtinvasive Methoden um den endokrinen Verlauf von Brustkrebspatientinnen mit adjuvanter Chemotherapie zu beurteilen. Neben den bereits etablierten Parametern wie FSH, Östradiol, AMH und Anzahl der antralen Follikel stellen Inhibin und Activin diesbezüglich sehr interessante Parameter dar, da diese bei etlichen endokrinen und nicht-endokrinen Tumoren fungieren [163, 164, 171]. Des Weiteren wurden die Inhibin-Untereinheiten als Tumormarker und Tumorsuppressoren beschrieben [102, 139]. Die Inhibin- und Activinuntereinheiten wurden bereits im Serum von Brustkrebspatientinnen detektiert, wie auch immunhistochemisch sowohl im normalen Brustepithel, als auch bei benignen und malignen Brusterkrankungen nachgewiesen [136, 149, 152, 153]. Es konnte gezeigt werden, dass eine verminderte Expression der Inhibin- α - und - β A-Untereinheit mit einer erhöhten Invasivität der Brusterkrankungen einhergeht und die Glykoproteinuntereinheiten somit auch eine Rolle bei der Pathogenese des Mammakarzinoms spielen [149].

Im Rahmen dieser Arbeit wurden bei 30 Mammakarzinompatientinnen die serologischen Konzentrationen der Glykoproteine Inhibin und Activin im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie gemessen und deren Rolle in Bezug auf verschiedene klinisch-pathologische Parameter analysiert.

Zusammenfassend zeigte sich, dass die Inhibin- und Activinkonzentrationen im Serum von Brustkrebspatientinnen unter adjuvanter Chemotherapie von verschiedenen Parametern wie dem Patientinnenalter, dem Menopausenstatus, der Entwicklung einer Amenorrhö, dem Chemotherapieschema, dem Her2/neu Status und der Therapie mit dem Antikörper Trastuzumab beeinflusst werden.

Im Folgenden werden die verschiedenen Inhibin- und Activinformen einzeln dargestellt, deren signifikanten Ergebnisse erläutert sowie deren Funktion und klinische Relevanz im Hinblick auf die aktuelle Studienlage diskutiert.

4.2 Inhibin A

4.2.1 Allgemein

Inhibin A besteht aus einer INH- α - und einer INH- β A-Untereinheit. Es wird hauptsächlich in den Gonaden produziert und seine primäre Funktion ist die Hemmung der FSH-Sekretion in der Hypophyse [82, 85]. Die Untereinheiten von Inhibin A konnten in gesundem sowie maligne verändertem Mammagewebe nachgewiesen werden [149, 153].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde Inhibin A mittels ELISA im Serum von Mammakarzinompatientinnen im Rahmen der adjuvanten Chemotherapie nachgewiesen und gemessen. Betrachtet man den zeitlichen Verlauf der Inhibin A-Serumkonzentration fällt auf, dass die Inhibin A-Konzentration im Rahmen der Chemotherapie abnimmt, allerdings ohne signifikante Unterschiede. Zusätzlich wurde ein ultrasensitiver ELISA für Inhibin A genutzt, welcher zwei verschiedene Antikörper zur Detektion dieses Moleküls im Serum nutzt und dadurch einen sensitiveren Nachweis ermöglicht sowie Konzentrationsschwankungen akkurater abbilden kann [169]. Es ist davon auszugehen, dass der ultrasensitive Nachweis zur Bestimmung der serologischen Inhibin A-Konzentrationen bei Mammakarzinompatientinnen geeigneter ist und die tatsächliche Situation *in vivo* besser darstellt. Der Beweis dieser Annahme steht allerdings noch aus. Im Rahmen des ultrasensitiven Nachweises konnte für Inhibin A (US Inhibin A) eine signifikante Abnahme im zeitlichen Verlauf der adjuvanten Chemotherapie erhoben werden. Beim Vergleich der Zeitpunkte untereinander konnte gezeigt werden, dass die Inhibin A-Serumkonzentration im ultrasensitiven Nachweis sowohl vier Wochen als auch zwei Jahre nach Chemotherapie signifikant niedrigere Werte demonstrierte als vor der Chemotherapie. US Inhibin A fiel also im Rahmen der Chemotherapie signifikant ab.

4.2.2 Inhibin A, Chemotherapie und Trastuzumab

Es wurde gezeigt, dass die Inhibin A-Serumkonzentration im Rahmen der **adjuvanten Chemotherapie** signifikant fällt. Dies lässt darauf schließen, dass die Chemotherapie Einfluss auf die Produktion und Sekretion dieser Hormone haben muss und sie vermindert. Inhibin wird, wie bereits erwähnt, hauptsächlich in den Gonaden produziert [20]. Eine wichtige Nebenwirkung der Chemotherapie ist die Gonadotoxizität durch Schädigung des Ovars, was zu einer ovariellen Dysfunktion mit CRA (chemotherapy related amenorrhea) führen kann [157]. Besonders Chemotherapieschemata, die Taxane und zusätzlich Cyclophosphamid enthalten, wie es auch in dieser Arbeit der Fall war, scheinen mit einer erhöhten Gonadotoxizität einherzugehen [172]. Der zytotoxische Effekt betrifft jedoch nicht nur die Keimzellen, sondern auch die hormonaktiven Theka- und Granulosazellen [157, 158]. Da die Granulosazellen des Ovars die Hauptquelle des zirkulierenden Inhibins darstellen [124], könnte die Abnahme der Inhibin A-Konzentration im Rahmen der Chemotherapie die Suppression der Ovarfunktion darstellen. Inhibin A scheint also neben den bereits etablierten Parametern wie FSH-, Östradiol-, Inhibin B- und AMH-Konzentration [163-165] als möglicher Marker für die ovarielle Reserve und chemotherapiebedingte Amenorrhö zu fungieren.

Beim Vergleich der Inhibin-Serumkonzentrationen in Bezug auf die beiden Chemotherapieschemata konnte für Inhibin A zum Zeitpunkt vor Chemotherapie ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Chemotherapieschemata erhoben werden. Die Werte lagen in der Randomisierungsgruppe FEC-DG, also Chemotherapie mit Gemcitabin, höher als in der Randomisierungsgruppe FEC-DOC ohne Gemcitabin. Diese Beobachtung lässt sich dadurch erklären, dass in der Randomisierungsgruppe FEC-DG mehr prämenopausale Patientinnen eingeschlossen waren als postmenopausale. Von insgesamt zwölf Patientinnen der Randomisierungsgruppe FEC-DG waren acht Patientinnen (66,7%) und somit zwei Drittel prämenopausal und nur vier (33,3%) postmenopausal. Das Patientinnenkollektiv war somit in Bezug auf die Chemotherapie nicht gleich verteilt, was jedoch keine wesentlichen Auswirkungen auf die anderen Ergebnisse hat, weil stets das gesamte Patientinnenkollektiv untersucht wurde.

Der Vergleich der **Antikörpertherapie mit Trastuzumab** lieferte für Inhibin A zum Zeitpunkt vor Chemotherapie ebenfalls ein signifikantes Ergebnis: Inhibin A war bei Patientinnen, die Trastuzumab (Herceptin®) erhalten sollten, höher als bei denen ohne die Antikörpertherapie. Auch dieses Ergebnis ist schwer zu deuten, da auch hier der Wirkstoff zum Zeitpunkt vor der eigentlichen Gabe noch keine Auswirkungen auf das Molekül haben kann.

4.2.3 Inhibin A, Patientinnenalter, Menopausenstatus und Amenorrhö

Der Vergleich des **Patientinnenalters** zeigte, dass die Inhibin A-Serumkonzentration im ultrasensitiven Nachweis bei den jüngeren Patientinnen (unter 52 Jahren) signifikant höher lag als bei den älteren (≥ 52 Jahre). Dieser Ergebnis überrascht nicht, denn wie bereits beschrieben, fallen Inhibin A und B perimenopausal und somit mit zunehmenden Lebensalter ab [130, 132].

Der Vergleich des **Menopausenstatus** lieferte ein ähnliches Ergebnis. Hier konnte gezeigt werden, dass die Inhibin A-Serumkonzentration im normalen wie auch im ultrasensitiven Nachweis zum Zeitpunkt vor Chemotherapie bei den prämenopausalen Patientinnen signifikant höher war als bei den postmenopausalen. Dieser Sachverhalt bestärkt die Studienlage, die besagt, dass das hauptsächlich von den Gonaden produzierte Inhibin nach der Menopause stark absinkt [130, 132, 173]. Im zweijährigen Follow-up nach Chemotherapie (vier Wochen und zwei Jahre nach Chemotherapie) unterschieden sich die Inhibin A-Konzentrationen bei den prä- und postmenopausalen Frauen nicht mehr signifikant. So könnte die Langzeitwirkung einer durchgeführten Chemotherapie eine entscheidende Rolle in der Sekretion von Inhibin A darstellen, indem die ovarielle Funktion durch die Chemotherapie langfristig beeinflusst wird [157, 161, 163]. Obwohl sich die Inhibin A-Serumkonzentrationen beim Vergleich des Menopausenstatus im zweijährigen Follow up nicht mehr signifikant unterschieden, zeigte sich jedoch die Tendenz, dass die prämenopausalen Patientinnen weiterhin höhere Inhibin A-Konzentrationen aufwiesen als die postmenopausalen Frauen. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Cobellis et al, die herausfanden, dass Patientinnen, die im Rahmen einer Chemotherapie eine Amenorrhö entwickelten, höhere Inhibin A-Serumwerte hatten als Frauen in der physiologischen Menopause. Dies weist auf eine zwar verminderte, aber erhaltene Ovarialfunktion nach der adjuvanten Chemotherapie hin [135]. Die Inhibin A-Konzentration könnte also einen prognostischen Parameter für die ovarielle Funktion darstellen und die adäquate Beratung der Patientinnen unterstützen.

Der Vergleich zwischen den Patientinnen, die eine **Amenorrhö** entwickelten und denen, die weiterhin eine Menstruation hatten, zeigte, dass die Frauen mit Amenorrhö vier Wochen nach Abschluss der Chemotherapie signifikant niedrigere Inhibin A-Serumkonzentrationen hatten als die Patientinnen, die weiterhin menstruierten. Die ovarielle Funktion spielt die wesentliche Rolle bei der Entstehung einer Amenorrhö. Dieses Ergebnis belegt ebenfalls die Auswirkungen der Chemotherapie Auswirkungen auf die ovarielle Funktion, wie bereits mehrfach klinisch beobachtet wurde [157, 158, 161, 163].

Des Weiteren erhärtet dies die oben beschriebene Annahme, dass Inhibin A einen prognostischen Marker für die ovarielle Reserve und die Entwicklung einer Amenorrhö darstellt. Zwei Jahre nach Chemotherapie bestand kein Unterschied mehr zwischen der Amenorrhö-Gruppe und der Nicht-Amenorrhö-Gruppe. Dies weist darauf hin, dass die ovarielle Funktion durch die Chemotherapie längerfristig eingeschränkt bleibt.

Petraglia et al. fanden heraus, dass Frauen mit idiopathischem POF-Syndrom niedrigere Inhibin A- und Inhibin B-Spiegel hatten als fertile Frauen oder Frauen mit einer hypothalamisch-hypophysär bedingten Amenorrhö. Interessanterweise bestand in Bezug auf die Inhibin A- und B-Konzentration jedoch kein Unterschied zwischen den postmenopausalen Frauen und denen mit POF-Syndrom [174]. Somit korrelieren sowohl die Inhibin A- als auch die Inhibin B-Konzentration im Serum mit der Verminderung der ovariellen Funktion.

4.2.4 Inhibin A als Tumormarker und prognostischer Marker beim Mammakarzinom

Schon im Jahr 1999 bewiesen Di Loreto et al., dass die Inhibinuntereinheiten im Brustepithel nachweisbar sind und dass deren Expression von der Invasivität einer Brusterkrankung abhängt [136]. Je maligner und invasiver der Tumor war, desto niedriger war die Expression der INH- α - und - β A-Untereinheiten [136, 149]. Das Verhalten der Glykoproteine im Serum von Mammakarzinompatientinnen ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Reis et al. zeigten, dass im Serum von Mammakarzinompatientinnen erhöhte Activin A-Spiegel gemessen werden konnten und deren Konzentration nach Exzision des Tumors abfiel [152]. Dieser Sachverhalt legt nahe, dass sich die Expression der Inhibin-Untereinheiten durch den Tumor im Serum widerspiegelt. Liang et al. untersuchten Proteine, die von Brustkrebszelllinien sezerniert werden, und fanden heraus, dass unter anderem die Inhibin- β -Untereinheit von malignen Mammakarzinomzellen vermehrt nach extrazellulär sezerniert wird [175].

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass sich die Inhibin A-Serumkonzentrationen im Follow up zwischen dem Zeitpunkt 2, vier Wochen nach Chemotherapie, und dem Zeitpunkt 3, zwei Jahre nach Chemotherapie, nicht unterscheiden. Dies ist interessant, weil in diesem Zeitraum keine der Patientinnen ein Rezidiv des Mammakarzinoms entwickelt hat. Ein plötzlicher Anstieg der serologischen Inhibinkonzentration könnte einen Hinweis auf ein Brustkrebsrezidiv geben.

Somit könnte Inhibin A einen möglichen Tumormarker sowie unabhängigen **Prognosemarker** für das rezidivfreie Überleben beim Mammakarzinom darstellen. Allerdings bedarf es diesbezüglich noch weiterer langfristiger Untersuchungen an einem größeren Patientenkollektiv.

Die Rolle der INH- α -Untereinheit als **Tumorsuppressor** wurde bereits vielfach diskutiert. Transgene Mäuse mit einer Deletion der INH- α -Untereinheit entwickelten gonadale Stromatumoren [139]. Dies könnte zum einen dadurch begründet sein, dass durch die fehlende INH- α -Untereinheit die Inhibinproduktion aufgehoben ist und es somit zur unkontrollierten FSH-Sekretion kommt. Die mitogene Wirkung von FSH auf die Granulosazellen könnte ein Tumorwachstum begünstigen. Zum anderen könnte eine Überexpression von β -Dimeren stattfinden und somit vermehrt Activin anfallen. Activin wirkt auf einige Gewebe wie Ovar, Hoden und Nebenniere wachstumsfördernd, was ebenfalls die Bildung eines Malignoms erklären könnte [20]. Auch in weiteren malignen Tumoren scheint die INH- α -Untereinheit als Tumorsuppressor zu fungieren, so zum Beispiel beim Magenkarzinom wie Kim et al. herausfanden. Bei Magenkarzinomzellen war das INH- α -Protein vermindert und transkriptionell stillgelegt, während die medikamentöse Anhebung der INH- α -Untereinheit mit der Induktion der Apoptose und der Regulation des Zellwachstums in Verbindung zu stehen scheint [176]. Des Weiteren stellt Inhibin-Pro- α C, ein Vorläuferprotein der INH- α -Kette, einen Tumormarker für das adrenokortikale Karzinom dar. Patienten mit Nebennierenrindenkarzinomen hatten erhöhte Serumwerte von Inhibin-Pro- α C [177]. Somit stellt die INH- α -Untereinheit einen allgemeinen Tumormarker auch außerhalb der reproduktiven Achse dar.

4.3 Inhibin B

4.3.1 Allgemein

Inhibin B besteht aus einer INH- α - und einer INH- β B-Untereinheit und ist ebenfalls an der FSH-Regulation beteiligt [99]. Allerdings ist dessen Rolle in der Karzinogenese noch weitgehend unklar. Während zahlreiche Erkenntnisse über die Funktion der INH- β A-Untereinheit, und somit indirekt von Inhibin A und Activin A bekannt sind, ist die genaue Funktion der INH- β B-Untereinheit (und somit von Inhibin B und Activin B) noch unbekannt. Obwohl die beiden Inhibin-Untereinheiten INH- β A und INH- β B etliche Ähnlichkeiten besitzen, haben sie doch unterschiedliche Funktionen [178-180].

Inhibin B bzw. Activin B wurden im Vergleich zu Inhibin A bzw. Activin A als geeignetere Tumormarker bei Granulosazelltumoren vorgeschlagen [181, 182], dies konnte jedoch nicht für andere Tumoren festgestellt werden. Allerdings scheint Inhibin B eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Ovarfunktion zu spielen.

Im Zusammenhang mit einer durchgeführten Chemotherapie wurde Inhibin B in einigen Studien als Serummarker für die Ovarialreserve diskutiert. Mehrfach konnte gezeigt werden, dass Inhibin B und AMH, beides Proteine der TGF- β -Proteinfamilie, während einer Chemotherapie signifikant abnehmen [164, 165, 172].

4.3.2 Inhibin B, Patientinnenalter, Menopausenstatus und ovarielle Reserve

Im zeitlichen Verlauf wurde sichtbar, dass die Inhibin B-Serumkonzentration im Rahmen der Chemotherapie vier Wochen nach dieser einen leichten Abfall und zwei Jahre nach Abschluss der Chemotherapie einen stärkeren Abfall zeigte, jedoch ohne Signifikanz.

Beim Vergleich des **Patientinnenalters** zeigte sich zum Zeitpunkt vor Chemotherapie ein signifikantes Ergebnis: Inhibin B lag bei den jüngeren Patientinnen signifikant höher als bei den älteren, wie es auch bei Inhibin A der Fall war. Wie bereits beschrieben sinken die serologischen Inhibin A- und Inhibin B-Konzentrationen im Rahmen der Menopause und mit steigendem Lebensalter [130].

Ein ähnliches Ergebnis lieferte auch der Vergleich des **Menopausenstatus**, der zeigte, dass die prämenopausalen Frauen zwei Jahre nach Chemotherapie eine signifikant höhere Inhibin B-Serumkonzentration aufwiesen als die postmenopausalen. Somit scheint die Inhibin B-Konzentration bei den prämenopausalen Patientinnen ein gewisses Erholungspotenzial nach der durchgeführten Chemotherapie zu haben. Diese Annahme wird durch die Studie von Crofton et al. bestärkt: Die Gruppe untersuchte Kinder, die aufgrund einer malignen Erkrankung eine Chemotherapie erhielten und fand heraus, dass es bei den Mädchen durch die Gonadotoxizität der Chemotherapie zu einer transienten Suppression von Inhibin B kam [183]. Die Inhibin B-Werte erholten sich aber in den meisten Fällen wieder, was auf einen temporären Arrest der Follikelentwicklung durch die Chemotherapie mit möglichem Erholungspotenzial hinweist. Eine anhaltende Suppression der Inhibin B-Konzentration wurde als eine endgültige Zerstörung des Ovars interpretiert [183].

Inhibin B wurde bereits mehrfach als Serummarker für die **Ovarialreserve** diskutiert [164, 165]. Inhibin B und AMH, beides Proteine der TGF- β -Proteinfamilie, nahmen während einer Chemotherapie signifikant ab [172]. Bei Frauen mit chemotherapiebedingter Amenorrhö waren die Inhibin B- und AMH-Serumkonzentrationen signifikant niedriger als bei der altersentsprechenden Kontrollgruppe [165].

Somit sind neben den FSH- und Östradiolspiegeln auch die Inhibin B- und AMH-Konzentrationen mit der Entstehung einer chemotherapiebedingten Amenorrhö assoziiert und können als zusätzliche Biomarker für die Ovarialreserve betrachtet werden [163-165, 171]. Besonders prä-chemotherapeutisch niedrige Werte von Inhibin B und AMH scheinen das CRA-Risiko zu erhöhen und könnten somit als prädiktiver Marker für die chemotherapiebedingte Amenorrhö fungieren [167]. Inhibin B stellt somit einen wichtigen Prognosemarker für die ovarielle Reserve unter anderem nach einer durchgeführten Chemotherapie dar, was vor allem in Anbetracht der jüngeren Mammakarzinompatientinnen mit gegebenenfalls noch nicht abgeschlossener Familienplanung eine bedeutende Rolle spielt.

4.4 Activin A

4.4.1 Allgemein

Activin A besteht aus zwei identischen INH- β A-Untereinheiten und stimuliert die FSH-Sekretion aus der Hypophyse [85]. Es ist endokrinologisch gesehen somit ein funktioneller Gegenspieler des Inhibins. Obwohl die Gonaden die Hauptquelle darstellen, wird Activin von einer Vielzahl weiterer, verschiedener endokriner und nicht-endokriner Organe exprimiert [119]. Activin und der Activin-Typ-II-Rezeptor konnten bereits in verschiedenen Brustzelllinien nachgewiesen werden und scheinen in einigen dieser Zelllinien das Zellwachstum in vitro zu regulieren [150].

4.4.2 Activin A und Chemotherapie

Die Activin A-Serumkonzentration blieb bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Mammakarzinompatientinnen im Verlauf der **adjuvanten Chemotherapie** relativ konstant und scheint somit nicht oder zumindest weniger durch die Chemotherapie beeinflusst zu werden als Inhibin. Beim Vergleich der beiden Chemotherapiearme FEC-DG versus FEC-DOC konnte gezeigt werden, dass Activin A vier Wochen nach Chemotherapie in der Gruppe FEC-DG mit Gemcitabin höher lag als in der Gruppe ohne Gemcitabin.

Activin A besteht aus zwei INH- β A-Untereinheiten und somit scheint INH- β A im Rahmen der Therapie mit Gemcitabin vermehrt sezerniert zu werden. Eine andere Möglichkeit wäre, dass durch die Gemcitabintherapie die Expression der INH- α -Untereinheit supprimiert wird und somit vermehrt INH- β A-Untereinheiten anfallen, die sich zu Activin A dimerisieren. Sprich die Sekretion wird aufgrund eines Mangels an INH- α -Untereinheiten zum Activin hin verschoben. Die strukturelle Ähnlichkeit von Inhibin und Activin legt nahe, dass die Zelle die Produktion dieser zwei gegensätzlich wirkenden Faktoren schnell alternieren kann und eine Verminderung der einen Untereinheit zu einem Überangebot der anderen Untereinheit führt [20].

Ein Zusammenhang zwischen Gemcitabintherapie und Proteinen der TGF- β -Proteinfamilie konnte bereits bei anderen malignen Tumoren nachgewiesen werden. Liu et al. zeigten, dass das Ansprechen einer Chemotherapie beim Leber- und Magenkarzinom durchaus von der Sekretion verschiedener TGF- β -Proteine abhängig sein kann [184]. Kim et al. fanden heraus, dass TGF- β -Rezeptor-Inhibitoren die Zytotoxizität von Gemcitabin beim Pankreaskarzinom verstärken [185]. Somit scheint es einen wichtigen Zusammenhang zwischen der Chemotherapie mit Gemcitabin und Activin A zu geben. In diesem Kontext sind jedoch weitere Untersuchungen und Studien notwendig.

4.4.3 Activin A, Menopausenstatus und Amenorrhö

Beim Vergleich von Menopausenstatus und Amenorrhö konnten für Activin A keine signifikanten Ergebnisse erhoben werden. Das Glykoproteinormon scheint also kaum durch die hormonelle Situation im weiblichen Körper beeinflusst zu werden. Diese Annahme wird durch die Studienlage bestärkt, die besagt, dass Activin im Laufe des Menstruationszyklus relativ konstant bleibt [128]. Des Weiteren zeigt Activin A bei Studien zur Ovarfunktion keinen Unterschied zwischen fertilen prämenopausalen Frauen, postmenopausalen Frauen und Frauen mit POF-Syndrom [174]. Activin A scheint also nicht direkt mit der ovariellen Funktion zu korrelieren und hat wenig Einfluss auf die hypophysär-gonadale Hormonachse im Rahmen des Menstruationszyklus [128].

4.4.4 Activin A, Her2/neu-Status und Trastuzumab

Zum Zeitpunkt 2, vier Wochen nach Chemotherapie, zeigten die Patientinnen mit **Her2/neu**-positiven Mammakarzinomen eine signifikant höhere Activin A-Serumkonzentration als Patientinnen mit HER2/neu-negativen Tumoren.

Die Her2/neu-positiven Tumore scheinen entweder vermehrt INH- β A-Untereinheiten und somit Activin A zu produzieren oder sie supprimieren die INH- α - und INH- β B-Untereinheit und verschieben somit durch ein Überangebot an INH- β A-Untereinheiten die Produktion zu Activin A.

Ein Zusammenhang zwischen der Überexpression des Wachstumsfaktorrezeptors Her2/neu und den zellulären Effekten der TGF- β -Proteine, zu denen auch die Activinuntereinheiten zählen, in Brustepithelzellen wurde bereits beschrieben [186]. Landis et al. zeigten, dass die Expression verschiedener TGF- β -Zielgene in Her2/neu-positiven Mammakarzinomzellen verändert wurde, weil deren Signalweg herunterreguliert wurde [187]. Somit scheint der Her2/neu-Status der Zellen durchaus Auswirkungen auf die Genregulation und Expression der TGF- β -Proteine und somit auch der Inhibin- und Activinuntereinheiten zu haben.

Activin A lieferte ein weiteres signifikantes Ergebnis beim Vergleich der Antikörpertherapie mit **Trastuzumab** (Herceptin®) ebenfalls vier Wochen nach Chemotherapie. Trastuzumab ist ein monoklonaler Antikörper, der in der Therapie des Mammakarzinoms bei Patientinnen mit Tumoren mit einer Überexpression des Her2/neu-Wachstumsfaktorrezeptors eingesetzt wird. Die Activin A-Serumkonzentration lag bei den Patientinnen, die eine Trastuzumab-Antikörpertherapie erhielten, höher als bei den Patientinnen ohne Antikörpertherapie. Welchen Einfluss die Trastuzumabtherapie auf die Produktion von Activin A hat, ist noch nicht vollständig geklärt. Es wurde jedoch bereits ein Zusammenhang zwischen der Überexpression des Wachstumsfaktorrezeptors Her2/neu und den zellulären Effekten der TGF- β -Proteine in Brustepithelzellen nachgewiesen [186]. So konnten TGF- β -Proteine die Zellmotilität bei Her2/neu-positiven Zellen steigern, während Trastuzumab die TGF- β -induzierte Zellmotilität verhinderte [186]. Es ist also davon auszugehen, dass die Her2/neu-Überexpression und der TGF- β -Signalweg bei der Induktion gewisser zellulärer Eigenschaften und somit auch mit der Tumorprogression in Verbindung stehen und dass Trastuzumab diese Eigenschaften zu beeinflussen vermag [186].

4.4.5 Activin A als prognostischer Marker beim Mammakarzinom

Activin A wurde bereits als Tumormarker bei unterschiedlichen malignen Erkrankungen vorgeschlagen, einschließlich Adenokarzinom der Lunge [188], Ösophaguskarzinom [189, 190], Pleuramesothelium [191] und Uterusmalignomen [192]. Auch beim Mammakarzinom scheint Activin A eine pathogenetische Funktion zu besitzen.

So konnte bei Patientinnen mit Mammakarzinom ein Abfall der Activin A-Serumkonzentration nach operativer Tumorentfernung beobachtet werden [152, 153].

Activin spielt eine wichtige Rolle bei der Zellproliferation und -differenzierung, der Apoptose, der Immunantwort, der Wundheilung und auch der Karzinogenese [101]. Activin wirkt auf einige Gewebe wie Ovar, Hoden und Nebenniere wachstumsfördernd, was eine Malignombildung begünstigen könnte [20]. Hoda et al. fanden heraus, dass Zellen mit Activin A-Behandlung weiter wuchsen und die Behandlung mit Activinrezeptor-Inhibitoren zu einer Hemmung des Zellüberlebens führte, so dass die Hemmung des Activinrezeptors als neues therapeutisches Mittel bei malignen Erkrankungen angesehen werden kann [191]. Somit könnte Activin A und sein Rezeptor gegebenenfalls auch ein therapeutisches Ziel beim Mammakarzinom darstellen.

Die Activinuntereinheiten sowie der Activin-Typ-II-Rezeptor wurden bereits in verschiedenen Brustzelllinien nachgewiesen und Activin scheint das Zellwachstum von Mammakarzinomzellen *in vitro* zu hemmen [150, 151]. Auch in menschlichen Brustkrebszellen ist Activin in der Lage das Zellwachstum zu hemmen [151]. Reis et al. beschrieben, dass dimeres Activin A im Mammakarzinomgewebe signifikant stärker nachweisbar ist als normalem Brustgewebe. Auch die serologische Activin A-Konzentration war bei Mammakarzinompatientinnen signifikant höher als bei der gesunden Kontrollgruppe und fiel nach operativer Entfernung des Tumors signifikant ab, so dass der Tumor möglicherweise selbst in der Lage ist, Activin A zu produzieren und dieses in die Zirkulation abzugeben [152, 153].

Des Weiteren scheint Activin A eine Rolle bei der Pathogenese von ossären Metastasen zu spielen, da seine Serumwerte bei Patientinnen und Patienten mit Knochenmetastasen beim Mamma- und Prostatakarzinom signifikant höher waren als in der Kontrollgruppe [156]. Außerdem trägt Activin A zur tumorbedingten Kachexie bei und erhöht somit die Tumormortalität beim Menschen [193, 194]. Activin A spielt folglich eine wesentliche Rolle in der Tumorbilogie, Pathophysiologie sowie Karzinogenese und sollte Gegenstand der aktuellen Forschung bleiben. Nicht zuletzt, weil Moleküle, die den TGF- β -II-Rezeptor blockieren und somit die Activinwirkungen aufheben, eine Therapieoption der Zukunft darstellen [191].

4.5 Activin B

4.5.1 Allgemein

Activin B besteht aus zwei INH- β B-Untereinheiten und aktiviert ebenfalls die FSH-Sekretion [97]. Während zahlreiche Erkenntnisse über die Funktion der INH- β A-Untereinheit bestehen, ist die genaue Rolle der INH- β B-Untereinheit und somit von Activin B insbesondere in der Karzinogenese weitgehend unklar.

4.5.2 Activin B, Chemotherapie und Endokrinologie

Für Activin B konnten im Rahmen dieser Arbeit keine signifikanten Ergebnisse erhoben werden. Es scheint unabhängig von der adjuvanten Therapie, dem Menopausenstatus und der Entwicklung einer Amenorrhö zu sein. Wie bereits beschrieben wurde, bleibt Activin auch im Rahmen des Menstruationszyklus relativ konstant [128]. Im zeitlichen Verlauf der adjuvanten **Chemotherapie** wurde gezeigt, dass die Activin B-Serumkonzentration weitgehend konstant blieb mit einer leicht sinkenden Tendenz. Activin B wird offenbar kaum durch die Chemotherapie beeinflusst.

Während die Funktion von Activin B bei malignen Erkrankungen noch weitgehend unklar ist, scheint dieses Molekül jedoch eine wesentliche Rolle bei endokrinologischen und metabolischen Vorgängen zu besitzen. Activin B beeinflusst beispielsweise die Größe, Anzahl und Zellzusammensetzung der Inselzellen des Pankreas ohne jedoch Auswirkungen auf die Glucosehomöostase des Körpers zu haben [195]. Auch bei der Entstehung von Adipositas und metabolischen Störungen ist Activin B involviert [196]. Des Weiteren spielt Activin B eine Rolle bei der chronisch-inflammatorischen Anämie und scheint hier ein geeignetes therapeutisches Ziel darzustellen [197].

4.5.3 Activin B als prognostischer Marker beim Mammakarzinom

Obwohl Activin B beziehungsweise Inhibin B bei Granulosazelltumoren als geeignetere Tumormarker als Activin A vorgeschlagen wurden [181, 182], sollte dies in weiteren, größeren Untersuchungen bestätigt werden.

Bei Untersuchungen von Mammagewebe konnte gezeigt werden, dass die Inhibin- β -Untereinheiten INH- β A und INH- β B schwächer exprimiert wurden je invasiver eine Brusterkrankung war.

Die verminderte Expression dieser Proteine könnte eine abnorme Zellproliferation beim **Mammakarzinom** begünstigen und somit auch Hinweise auf eine maligne Entartung geben [136]. Der Vergleich verschiedener maligner Brusterkrankungen lieferte jedoch nur für die INH- α - und INH- β A-Untereinheiten signifikante Unterschiede, diese waren bei den maligneren Erkrankungen vermindert. INH- β B konnte zwar in allen Mammakarzinomgeweben nachgewiesen werden, jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede in Hinsicht auf die Art des Gewebes [149].

Zusätzlich scheint die INH- β B-Untereinheit mit der Karzinogenese des endometrioiden Adenokarzinoms des Uterus in Verbindung zu stehen ohne jedoch einen geeigneten prognostischen Marker darzustellen [143]. Activin B spielt in Anbetracht der aktuellen Studienlage eine weniger bedeutende Rolle sowohl bei der hormonellen Regulation als auch bei der Karzinogenese. Dennoch besitzt auch dieses Glycoproteinormon wichtige Funktionen im menschlichen Körper.

4.6 Activin AB

4.6.1 Allgemein

Activin AB besteht aus zwei heterogenen Untereinheiten, einer INH- β A- und einer INH- β B-Untereinheit. Es stimuliert ebenfalls die FSH-Sekretion aus der Hypophyse [84]. Allerdings ist die genaue Funktion dieses Moleküls noch weitgehend unklar. Auch die Faktoren, die die Synthese von Activin AB stimulieren, sind derzeit noch unbekannt.

4.6.2 Activin AB und Chemotherapie

Im zeitlichen Verlauf der adjuvanten **Chemotherapie** blieb Activin AB, ähnlich wie die beiden bereits beschriebenen Activinformen Activin A und Activin B, relativ konstant mit einem minimalen Abfall nach Abschluss der Chemotherapie. Beim Vergleich der Activine in Bezug auf die beiden Chemotherapieschemata FEC-DG mit Gemcitabin versus FEC-DOC ohne Gemcitabin ergaben sich signifikante Ergebnisse: nicht nur die Serumkonzentration von Activin A sondern auch die von Activin AB waren beim Chemotherapieschema FEC-DG mit Gemcitabin vier Wochen nach Chemotherapie signifikant höher als beim Schema ohne Gemcitabin. Es wurde bereits beschrieben, dass Activin A aus zwei INH- β A-Untereinheiten und Activin AB aus einer INH- β A- und einer INH- β B-Untereinheit besteht.

Somit zeigen die beiden Glykoproteinhormone, die die INH- β A-Untereinheit enthalten, signifikante Unterschiede beim Vergleich der beiden Chemotherapiearme. Es besteht also die Annahme, dass die INH- β A-Untereinheit bei einer Therapie mit Gemcitabin vermehrt sezerniert wird. Alternativ könnte es durch die Gemcitabintherapie zu einer Verminderung der INH- α -Untereinheit kommen, so dass die Produktion von INH- β -Untereinheiten überwiegt und zum Activin hin verschoben wird. Diese Tatsache wurde bisher jedoch noch nicht in wissenschaftlichen Studien belegt.

Activin B (β B- β B) enthält keine INH- β A-Untereinheit und liefert in diesem Zusammenhang interessanterweise auch keinen signifikanten Unterschied.

4.6.3 Activin AB, Amenorrhö und Menopausenstatus

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Activin AB-Konzentration bei den Patientinnen, die im Rahmen der Chemotherapie eine **Amenorrhö** entwickelten, zwei Jahre nach Chemotherapie signifikant höher lag als bei den Patientinnen ohne Amenorrhö. Ein ähnliches Ergebnis lieferte der Vergleich des **Menopausenstatus**, der zeigte, dass die Activin AB-Konzentration zwei Jahre nach Chemotherapie bei den postmenopausalen Frauen höher lag als bei den prämenopausalen. Während die Inhibin-Serumkonzentration mit zunehmenden Lebensalter und abnehmender Ovarfunktion fällt, steigt die Konzentration von Activin, insbesondere von Activin A, mit zunehmenden Lebensalter signifikant an [133, 134]. Diese Aussage wurde im Rahmen dieser Arbeit somit auch für Activin AB belegt. Da die untersuchten postmenopausalen Patientinnen im Durchschnitt älter waren (Durchschnittsalter 60 Jahre) als die prämenopausalen (Durchschnittsalter 45 Jahre), und Activin, wie bereits erwähnt, mit dem Lebensalter ansteigt, erscheint es durchaus logisch, dass die Activin AB-Serumkonzentrationen bei den postmenopausalen Patientinnen signifikant höher war als bei den prämenopausalen.

4.6.4 Activin AB und Her2/neu-Status

Wie bereits beschrieben, scheint es einen Zusammenhang zwischen der Überexpression des Wachstumsfaktorrezeptors Her2/neu und den zellulären Effekten der TGF- β -Proteine in Brustepithelzellen zu geben [186]. Interessanterweise ergab der Activin AB-Nachweis in Korrelation des **Her2/neu-Status** zum Zeitpunkt 2, vier Wochen nach Chemotherapie, ein signifikantes Ergebnis:

Die Activin AB-Serumkonzentration war bei den Her2/neu-negativen Tumoren vier Wochen nach Chemotherapie höher als bei den Her2/neu-positiven Tumoren (im Gegensatz zu Activin A, dessen Konzentration bei den Her2/neu-positiven Tumoren höher war). Her2/neu-negative Tumore produzieren im Gegensatz zu den Her2/neu-positiven Tumoren nicht nur INH- β A- sondern auch INH- β B-Untereinheiten und somit Activin AB. Allerdings ist der genaue pathophysiologische Mechanismus des möglichen Zusammenhangs von Her2/neu-Wachstumsfaktorrezeptor und Activin AB noch unbekannt. Obwohl die hier beschriebenen Ergebnisse einen Zusammenhang zwischen diesen beiden Faktoren nahe legen, bleibt die klinische Relevanz bisher weitestgehend ungeklärt und bedarf weiterer Forschung.

Die Parameter Größe und Gewicht der Patientinnen, Tumorgröße, Rezeptorstatus des Tumors sowie die endokrine Therapie lieferten kein signifikantes Ergebnis im Rahmen dieser Arbeit und scheinen somit auch keine Auswirkung auf die Serumkonzentration von Inhibin und Activin zu haben.

5 Zusammenfassung

Das Mammakarzinom ist die häufigste maligne Erkrankung der Frau [1]. Die wichtigsten prognostischen Faktoren sind die TNM-Klassifikation sowie die molekularbiologischen Tumoreigenschaften [46, 48]. Die Therapie des Mammakarzinoms ist eine Kombinationstherapie aus Operation, Radiatio, Hormon-, Chemo- und Antikörpertherapie [62-64]. Eine von vielen möglichen Nebenwirkungen der Chemotherapie ist die Gonadotoxizität mit ovarieller Dysfunktion, Amenorrhö und Sterilität [64, 71, 158]. Die chemotherapieinduzierte Amenorrhö spielt eine bedeutende Rolle, da bereits junge Frauen vor Abschluss der Familienplanung an einem Mammakarzinom erkranken und eine adjuvante Chemotherapie erhalten [2]. Trotz vielfacher Forschung gibt es bisher nur wenige Methoden um das Follow up von Brustkrebspatientinnen mit adjuvanter Chemotherapie zu beurteilen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden bei 30 Mammakarzinompatientinnen die serologischen Konzentrationen der Glykoproteinhormone Inhibin und Activin im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie qualitativ und quantitativ gemessen und deren Rolle in Bezug auf die adjuvante Therapie, die chemotherapieinduzierte Amenorrhö und deren mögliche Funktion als Tumormarker und Prognoseparameter beim Mammakarzinom untersucht und diskutiert.

Inhibin und Activin gehören zur TGF- β -Proteinfamilie. Sie werden hauptsächlich in den Granulosazellen des Ovars produziert und haben verschiedene endokrinologische und nicht-endokrinologische Funktionen wie beispielsweise die Regulierung der FSH-Sekretion sowie der Zellproliferation und -differenzierung und spielen des Weiteren eine Rolle bei der Pathogenese maligner Erkrankungen [81, 83]. Zusammenfassend scheinen die Inhibin- und Activinkonzentrationen im Serum von Brustkrebspatientinnen unter adjuvanter Therapie von verschiedenen Parametern wie der Chemotherapie, dem Patientinnenalter, dem Menopausenstatus, der Entwicklung einer Amenorrhö, dem Her2/neu Status und der Trastuzumabtherapie abhängig zu sein und beeinflusst zu werden. Andere Parameter wie Größe und Gewicht der Patientinnen, Tumorgröße, Rezeptorstatus des Tumors sowie die endokrine Therapie scheinen jedoch keine Auswirkung auf die Konzentration der Glycoproteinhormone Inhibin und Activin im Serum von Brustkrebspatientinnen zu haben.

Da Inhibin in den Granulosazellen des Ovars produziert wird und dessen Konzentration im Rahmen der Menopause abfällt [20, 130], waren beim Vergleich des **Patientinnenalters** erwartungsgemäß sowohl die Inhibin A- als auch die Inhibin B-Serumkonzentration bei den jüngeren Patientinnen höher als bei den älteren.

Die Inhibin A-Serumkonzentration zeigte im ultrasensitiven Nachweis eine signifikante Abnahme im Verlauf der adjuvanten Chemotherapie. Dieser Abfall der Inhibin A-Konzentration scheint die Suppression der **ovariellen Funktion** im Rahmen der Chemotherapie widerzuspiegeln und macht Inhibin A zu einem Marker für die chemotherapieinduzierte Amenorrhö.

Dies wird durch den Vergleich der Patientinnen mit und ohne Entwicklung einer **Amenorrhö** bestätigt. Inhibin A war vier Wochen nach Abschluss der Chemotherapie bei den Frauen, die im Rahmen der Chemotherapie eine Amenorrhö entwickelt hatten, signifikant niedriger als bei den Frauen ohne Amenorrhö. Die Activin AB-Serumkonzentration hingegen war bei den Patientinnen mit Amenorrhö zwei Jahre nach Chemotherapie höher, denn Activin steigt mit zunehmenden Lebensalter an [133, 134].

Der Vergleich des **Menopausenstatus**, welcher zeigte, dass Inhibin A vor Beginn der Chemotherapie bei den postmenopausalen Frauen niedriger war als bei den prämenopausalen, verdeutlicht ebenfalls den Zusammenhang der Inhibin A-Konzentration mit der ovariellen Funktion. Zwei Jahre nach Chemotherapie konnte dieser Zusammenhang für Inhibin B belegt werden, was für eine gewisse Erholungstendenz von Inhibin B bei den prämenopausalen Frauen spricht. Da die Activin-Serumkonzentration mit dem Alter zunimmt [133, 134], ist es kaum verwunderlich, dass Activin AB im zweijährigen Follow-up nach Chemotherapie bei den postmenopausalen Patientinnen, die im Durchschnitt älter sind als die prämenopausalen, höher lag.

Die beiden untersuchten **Chemotherapieschemata** FEC-DG mit Gemcitabin versus FEC-DOC allein zeigten für die serologische Activinkonzentration signifikante Unterschiede: Activin A und Activin AB waren höher, wenn die Patientinnen das Chemotherapieschema mit Gemcitabin erhielten. Das Zytostatikum Gemcitabin scheint also die Activin-Serumkonzentration, insbesondere die Konzentration der INH- β A-Untereinheit, zu erhöhen.

Zudem scheint der **Her2/neu-Status** des Tumors Auswirkungen auf die Activin-Serumkonzentration zu haben, denn die Activin A-Konzentration war bei den Her2/neu-positiv getesteten Patientinnen vier Wochen nach Chemotherapie höher als bei den Her2/neu-negativen. Die Activin AB-Konzentration hingegen lag bei den Her2/neu-negativ getesteten Patientinnen höher. Die Her2/neu-positiven Tumore produzieren möglicherweise mehr Wachstumsfaktoren, die die Activinproduktion dadurch verändern. Diese Annahme sollte jedoch in weiteren Studien untersucht werden.

Auch die Therapie mit dem monoklonalen Antikörper **Trastuzumab** scheint die Activin-Konzentration zu beeinflussen. Activin A lag vier Wochen nach Chemotherapie bei den Patientinnen, die Trastuzumab erhielten, höher als bei denen ohne Antikörpertherapie.

Des Weiteren wurde die Funktion von Inhibin A als Tumor- und Prognosemarker für das **Mammakarzinom** dargestellt, da ein Anstieg der Serumkonzentration Hinweise auf ein Brustkrebsrezidiv geben kann. Die Rolle der Inhibin- α -Untereinheit als Tumorsuppressor wurde bereits in vielen experimentellen Studien untersucht und diskutiert [102, 139]. Während Activin B eine geringe Rolle bei der Karzinogenese spielt, wurde die Funktion von Activin A als Tumormarker und Tumorsuppressor ausführlich dargestellt [150, 151, 155]. Activin A und der Activin-TypII-Rezeptor stellen ein neues Therapieziel bei malignen Erkrankungen dar und sollten weiterhin Gegenstand der aktuellen Forschung bleiben [150, 151, 191].

In der vorliegenden Arbeit konnten, wie vorstehend zusammengefasst, einige bedeutende Eigenschaften und Funktionen von Inhibin und Activin herausgearbeitet werden. Hier sind insbesondere deren Verhalten im Rahmen der adjuvanten Therapie unter Betrachtung verschiedener endokrinologischer, molekularbiologischer sowie patienten- und therapiebezogener Parameter und deren Rolle als Serummarker für die ovarielle Reserve sowie als Prognosemarker beim Mammakarzinom zu nennen. Die Glykoproteinhormone Inhibin und Activin sollten jedoch weiterhin Gegenstand der Forschung bleiben, um ihre klinische Bedeutung im Bereich der gynäkologischen Endokrinologie und Karzinogenese zu präzisieren.

6 Literaturverzeichnis

1. Bauerfeind I: **MANUAL Mammakarzinome Empfehlung zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge**, 14 edn. München: W. Zuckschwerdt Verlag, Tumorzentrum München an den Medizinischen Fakultäten der Ludwig-Maximilians-Universität und der technischen Universität TUM; 2013.
2. Kaatsch P, Spix C, Hentschel S, Katalinic A, Luttmann S, Stegmaier C, Caspritz S, Cernaj J, Ernst A, Folkerts J *et al*: **Krebs in Deutschland 2009/2010**. In., 9 edn. Berlin: Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg); 2013.
3. Gerber B, Friedrich M, Maass N, Felderbaum R, Minckwitz Gv, Ortmann O: **Ovarprotektion mit GnRH-Analoga: Bereits ein Standard?** *Frauenarzt* 2005, **46**(10):880-883.
4. Sant M: **Differences in stage and therapy for breast cancer across Europe**. *Int J Cancer* 2001, **93**(6):894-901.
5. Gill PG, Farshid G, Luke CG, Roder DM: **Detection by screening mammography is a powerful independent predictor of survival in women diagnosed with breast cancer**. *Breast* 2004, **13**(1):15-22.
6. Ernst MF, Voogd AC, Coebergh JW, Roukema JA: **Breast carcinoma diagnosis, treatment, and prognosis before and after the introduction of mass mammographic screening**. *Cancer* 2004, **100**(7):1337-1344.
7. Bertz J: **Verbreitung von Krebserkrankungen in Deutschland. Entwicklung der Prävalenzen zwischen 1990 und 2010; eine Veröffentlichung des Zentrums für Krebsregisterdaten am RKI**. Berlin: Zentrum für Krebsregisterdaten am RKI; 2010.
8. Speroff L, Glass RH, Kase NG (eds.): *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, 6 edn. Baltimore Maryland, Philadelphia: Lipin Cott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company; 1999.
9. Slattery ML, Kerber RA: **A comprehensive evaluation of family history and breast cancer risk. The Utah Population Database**. *JAMA* 1993, **270**(13):1563-1568.
10. Weber BL, Garber JE: **Family history and breast cancer. Probabilities and possibilities**. *JAMA* 1993, **270**(13):1602-1603.
11. **Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease**. *Lancet* 2001, **358**(9291):1389-1399.
12. Xu CF, Solomon E: **Mutations of the BRCA1 gene in human cancer**. *Semin Cancer Biol* 1996, **7**(1):33-40.
13. Yang X, Lippman ME: **BRCA1 and BRCA2 in breast cancer**. *Breast Cancer Res Treat* 1999, **54**(1):1-10.
14. Easton DF, Ford D, Bishop DT: **Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium**. *Am J Hum Genet* 1995, **56**(1):265-271.
15. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, Loman N, Olsson H, Johannsson O, Borg A *et al*: **Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies**. *Am J Hum Genet* 2003, **72**(5):1117-1130.
16. Antoniou AC, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, Olsson H, Johannsson O, Borg A, Pasini B *et al*: **Breast and ovarian cancer risks to carriers of the BRCA1 5382insC and 185delAG and BRCA2 6174delT mutations: a combined analysis of 22 population based studies**. *J Med Genet* 2005, **42**(7):602-603.

17. Brekelmans CT, Tilanus-Linthorst MM, Seynaeve C, vd Ouweland A, Menke-Pluymers MB, Bartels CC, Kriege M, van Geel AN, Burger CW, Eggermont AM *et al*: **Tumour characteristics, survival and prognostic factors of hereditary breast cancer from BRCA2-, BRCA1- and non-BRCA1/2 families as compared to sporadic breast cancer cases.** *Eur J Cancer* 2007, **43**(5):867-876.
18. Turnbull C, Rahman N: **Genetic predisposition to breast cancer: past, present, and future.** *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008, **9**:321-345.
19. Stauber M, Weyerstahl T (eds.): **Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe**, 3 edn. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2007.
20. Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL (eds.): **Reproductive Endocrinology Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management**, 4 edn. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 1999.
21. La Vecchia C, Negri E, Bruzzi P, Dardanoni G, Decarli A, Franceschi S, Palli D, Talamini R: **The role of age at menarche and at menopause on breast cancer risk: combined evidence from four case-control studies.** *Ann Oncol* 1992, **3**(8):625-629.
22. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E: **Epidemiology of breast cancer.** *Lancet Oncol* 2001, **2**(3):133-140.
23. **Journal für Menopause 2003: Epidemiologie, Mammakarzinom und Hormonersatztherapie 10(4) (Ausgabe für Deutschland) 6-10** [<http://www.kup.at/kup/pdf/3693.pdf>]
24. Steinberg KK, Thacker SB, Smith SJ, Stroup DF, Zack MM, Flanders WD, Berkelman RL: **A meta-analysis of the effect of estrogen replacement therapy on the risk of breast cancer.** *JAMA* 1991, **265**(15):1985-1990.
25. Beral V, Banks E, Reeves G, Wallis M: **Hormone replacement therapy and high incidence of breast cancer between mammographic screens.** *Lancet* 1997, **349**(9058):1103-1104.
26. **Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.** *Lancet* 1996, **347**(9017):1713-1727.
27. Cibula D, Gompel A, Mueck AO, La Vecchia C, Hannaford PC, Skouby SO, Zikan M, Dusek L: **Hormonal contraception and risk of cancer.** *Hum Reprod Update* 2010, **16**(6):631-650.
28. Ewertz M, Duffy SW, Adami HO, Kvale G, Lund E, Meirik O, Mellempgaard A, Soini I, Tulinius H: **Age at first birth, parity and risk of breast cancer: a meta-analysis of 8 studies from the Nordic countries.** *Int J Cancer* 1990, **46**(4):597-603.
29. Yoo KY, Tajima K, Kuroishi T, Hirose K, Yoshida M, Miura S, Murai H: **Independent protective effect of lactation against breast cancer: a case-control study in Japan.** *Am J Epidemiol* 1992, **135**(7):726-733.
30. Newcomb PA, Storer BE, Longnecker MP, Mittendorf R, Greenberg ER, Clapp RW, Burke KP, Willett WC, MacMahon B: **Lactation and a reduced risk of premenopausal breast cancer.** *N Engl J Med* 1994, **330**(2):81-87.
31. McTiernan A, Thomas DB: **Evidence for a protective effect of lactation on risk of breast cancer in young women. Results from a case-control study.** *Am J Epidemiol* 1986, **124**(3):353-358.
32. Nekolla E: **Epidemiologie des strahleninduzierten Mammakarzinoms, Dissertation, LMU München, Medizinische Fakultät.** In. München; 2004.
33. Mettler FA, Upton AC, Kelsey CA, Ashby RN, Rosenberg RD, Linver MN: **Benefits versus risks from mammography: a critical reassessment.** *Cancer* 1996, **77**(5):903-909.

34. Lawlor DA, Smith GD, Ebrahim S: **Hyperinsulinaemia and increased risk of breast cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study.** *Cancer Causes Control* 2004, **15**(3):267-275.
35. Carroll KK: **Experimental studies on dietary fat and cancer in relation to epidemiological data.** *Prog Clin Biol Res* 1986, **222**:231-248.
36. Leidenberger F, Strowitzki T, Ortmann O (eds.): *Klinische Endokrinologie für Frauenärzte*, 3 edn. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2005.
37. Longnecker MP: **Alcoholic beverage consumption in relation to risk of breast cancer: meta-analysis and review.** *Cancer Causes Control* 1994, **5**(1):73-82.
38. Reynolds P, Hurley S, Goldberg DE, Anton-Culver H, Bernstein L, Deapen D, Horn-Ross PL, Peel D, Pinder R, Ross RK *et al*: **Active smoking, household passive smoking, and breast cancer: evidence from the California Teachers Study.** *J Natl Cancer Inst* 2004, **96**(1):29-37.
39. Friedenreich CM, Rohan TE: **Physical activity and risk of breast cancer.** *Eur J Cancer Prev* 1995, **4**(2):145-151.
40. Page DL, Dupont WD, Rogers LW, Rados MS: **Atypical hyperplastic lesions of the female breast. A long-term follow-up study.** *Cancer* 1985, **55**(11):2698-2708.
41. WHO: **World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the breast and Female Genital Organs.** *Tavassoli FA, Devilee P (eds) IARC Press* 2003:9-112.
42. Pfleiderer A, Breckwoldt M, Martius G (eds.): *Gynäkologie und Geburtshilfe*, 4 edn. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2001.
43. Olsson N, Carlsson P, James P, Hansson K, Waldemarson S, Malmstrom P, Ferno M, Ryden L, Wingren C, Borrebaeck CA: **Grading breast cancer tissues using molecular portraits.** *Mol Cell Proteomics* 2013, **12**(12):3612-3623.
44. Elston CW, Ellis IO: **Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up.** *C. W. Elston & I. O. Ellis. Histopathology* 1991; **19**; 403-410. *Histopathology* 2002, **41**(3A):151-152, discussion 152-153.
45. UICC: **UICC TNM classification of malignant tumours.** In. New York: Wiley-Liss, Inc.; 2002.
46. Garne JP, Aspegren K, Linell F, Rank F, Ranstam J: **Primary prognostic factors in invasive breast cancer with special reference to ductal carcinoma and histologic malignancy grade.** *Cancer* 1994, **73**(5):1438-1448.
47. Sutherland CM, Mather FJ: **Long-term survival and prognostic factors in breast cancer patients with localized (no skin, muscle, or chest wall attachment) disease with and without positive lymph nodes.** *Cancer* 1986, **57**(3):622-629.
48. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA *et al*: **Molecular portraits of human breast tumours.** *Nature* 2000, **406**(6797):747-752.
49. von Wasielewski R, Mengel M, Wiese B, Rudiger T, Muller-Hermelink HK, Kreipe H: **Tissue array technology for testing interlaboratory and interobserver reproducibility of immunohistochemical estrogen receptor analysis in a large multicenter trial.** *Am J Clin Pathol* 2002, **118**(5):675-682.
50. Rudiger T, Hofler H, Kreipe HH, Nizze H, Pfeifer U, Stein H, Dallenbach E, Fischer HP, Mengel M, Von Wasielewski R *et al*: **[Interlaboratory trial 2000 "Immunohistochemistry" of the German Society for Pathology and the Professional Association of German Pathologists].** *Pathologe* 2003, **24**(1):70-78.

51. Remmele W, Stegner HE: **[Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]**. *Pathologe* 1987, **8**(3):138-140.
52. Hammond ME, Hayes DF, Wolff AC, Mangu PB, Temin S: **American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer**. *J Oncol Pract* 2010, **6**(4):195-197.
53. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ: **Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007**. *Ann Oncol* 2007, **18**(7):1133-1144.
54. McGuire WL, Clark GM: **Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer**. *N Engl J Med* 1992, **326**(26):1756-1761.
55. Ravdin PM, Green S, Dorr TM, McGuire WL, Fabian C, Pugh RP, Carter RD, Rivkin SE, Borst JR, Belt RJ *et al*: **Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study**. *J Clin Oncol* 1992, **10**(8):1284-1291.
56. Vollenweider-Zerargui L, Barrelet L, Wong Y, Lemarchand-Beraud T, Gomez F: **The predictive value of estrogen and progesterone receptors' concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women. Clinical correlation on 547 patients**. *Cancer* 1986, **57**(6):1171-1180.
57. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R: **Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06**. *J Clin Oncol* 1988, **6**(7):1076-1087.
58. Chia S, Norris B, Speers C, Cheang M, Gilks B, Gown AM, Huntsman D, Olivotto IA, Nielsen TO, Gelmon K: **Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression as a prognostic factor in a large tissue microarray series of node-negative breast cancers**. *J Clin Oncol* 2008, **26**(35):5697-5704.
59. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A *et al*: **American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer**. *Arch Pathol Lab Med* 2007, **131**(1):18-43.
60. Yarden Y: **Biology of HER2 and its importance in breast cancer**. *Oncology* 2001, **61 Suppl 2**:1-13.
61. Papadopoulou E, Anagnostopoulos K, Tripsianis G, Tentes I, Kakolyris S, Galazios G, Sivridis E, Simopoulos K, Kortsaris A: **Evaluation of predictive and prognostic significance of serum TGF-beta1 levels in breast cancer according to HER-2 codon 655 polymorphism**. *Neoplasma* 2008, **55**(3):229-238.
62. **Senologie-Update 2013 Neue Empfehlungen nach der St. Gallen Konsensuskonferenz**
[http://www.brustkrebsverlauf.info/vortraege/senologieupdate2013/bcc_konsensus_thuerlimann.htm]
63. Harbeck N, Thomssen C, Gnant M: **St. Gallen 2013: brief preliminary summary of the consensus discussion**. *Breast Care (Basel)* 2013, **8**(2):102-109.
64. Karow T, Lang-Roth R (eds.): *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 17 edn. Köln; 2009.

65. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, Aguilar M, Marubini E: **Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer.** *N Engl J Med* 2002, **347**(16):1227-1232.
66. Holzel D, Engel J, Schmidt M, Sauer H: **[A model for primary and secondary metastasis in breast cancer and the clinical consequences].** *Strahlenther Onkol* 2001, **177**(1):10-24.
67. Nielsen HM, Overgaard M, Grau C, Jensen AR, Overgaard J: **Study of failure pattern among high-risk breast cancer patients with or without postmastectomy radiotherapy in addition to adjuvant systemic therapy: long-term results from the Danish Breast Cancer Cooperative Group DBCG 82 b and c randomized studies.** *J Clin Oncol* 2006, **24**(15):2268-2275.
68. EBCTCG: **Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group: Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials.** *Lancet* 2005, **365**(9472):1687-1717.
69. EBCTCG, Davies C, Godwin J, Gray R: **Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group: Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials.** *Lancet* 2011, **27**(378(9793)):771-784.
70. EBCTCG: **Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group: Comparison between different polychemotherapy regimes for early breast cancer: meta-analysis of long-term outcome among 100000 women in 123 randomised trials.** *Lancet* 2012, **379**:432-444.
71. Ganz PA, Greendale GA, Petersen L, Kahn B, Bower JE: **Breast cancer in younger women: reproductive and late health effects of treatment.** *J Clin Oncol* 2003, **21**(22):4184-4193.
72. Duffy CM, Allen SM, Clark MA: **Discussions regarding reproductive health for young women with breast cancer undergoing chemotherapy.** *J Clin Oncol* 2005, **23**(4):766-773.
73. Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M: **Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study.** *Fertil Steril* 2009, **91**(3):694-697.
74. Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Olmeo N, Gori S, Giordano M, Garrone O, Pronzato P, Bighin C *et al*: **Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: a randomized trial.** *JAMA* 2011, **306**(3):269-276.
75. Recchia F, Saggio G, Amiconi G, Di Blasio A, Cesta A, Candeloro G, Rea S: **Gonadotropin-releasing hormone analogues added to adjuvant chemotherapy protect ovarian function and improve clinical outcomes in young women with early breast carcinoma.** *Cancer* 2006, **106**(3):514-523.
76. Urruticoechea A, Arnedos M, Walsh G, Dowsett M, Smith IE: **Ovarian protection with goserelin during adjuvant chemotherapy for pre-menopausal women with early breast cancer (EBC).** *Breast Cancer Res Treat* 2008, **110**(3):411-416.
77. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, Brennan L, Magdalinski AJ, Partridge AH, Quinn G, Wallace WH, Oktay K: **Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update.** *J Clin Oncol* 2013, **31**(19):2500-2510.

78. Powles T, Paterson A, McCloskey E, Schein P, Scheffler B, Tidy A, Ashley S, Smith I, Ottestad L, Kanis J: **Reduction in bone relapse and improved survival with oral clodronate for adjuvant treatment of operable breast cancer [ISRCTN83688026].** *Breast Cancer Res* 2006, **8**(2):R13.
79. Saarto T, Vehmanen L, Virkkunen P, Blomqvist C: **Ten-year follow-up of a randomized controlled trial of adjuvant clodronate treatment in node-positive breast cancer patients.** *Acta Oncol* 2004, **43**(7):650-656.
80. Coleman RE, Marshall H, Cameron D, Dodwell D, Burkinshaw R, Keane M, Gil M, Houston SJ, Grieve RJ, Barrett-Lee PJ *et al*: **Breast-cancer adjuvant therapy with zoledronic acid.** *N Engl J Med* 2011, **365**(15):1396-1405.
81. Vale W, Rivier C, Hsueh A, Campen C, Meunier H, Bicsak T, Vaughan J, Corrigan A, Bardin W, Sawchenko P *et al*: **Chemical and biological characterization of the inhibin family of protein hormones.** *Recent Prog Horm Res* 1988, **44**:1-34.
82. Ying SY: **Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone.** *Endocr Rev* 1988, **9**(2):267-293.
83. de Kretser DM, Hedger MP, Loveland KL, Phillips DJ: **Inhibins, activins and follistatin in reproduction.** *Hum Reprod Update* 2002, **8**(6):529-541.
84. Ling N, Ying SY, Ueno N, Shimasaki S, Esch F, Hotta M, Guillemin R: **Pituitary FSH is released by a heterodimer of the beta-subunits from the two forms of inhibin.** *Nature* 1986, **321**(6072):779-782.
85. Ling N, Ying SY, Ueno N, Shimasaki S, Esch F, Hotta M, Guillemin R: **A homodimer of the beta-subunits of inhibin A stimulates the secretion of pituitary follicle stimulating hormone.** *Biochem Biophys Res Commun* 1986, **138**(3):1129-1137.
86. Dye RB, Rabinovici J, Jaffe RB: **Inhibin and activin in reproductive biology.** *Obstet Gynecol Surv* 1992, **47**(3):173-185.
87. Robertson DM, Giacometti M, Foulds LM, Lahnstein J, Goss NH, Hearn MT, de Kretser DM: **Isolation of inhibin alpha-subunit precursor proteins from bovine follicular fluid.** *Endocrinology* 1989, **125**(4):2141-2149.
88. Fang J, Yin W, Smiley E, Wang SQ, Bonadio J: **Molecular cloning of the mouse activin beta E subunit gene.** *Biochem Biophys Res Commun* 1996, **228**(3):669-674.
89. Oda S, Nishimatsu S, Murakami K, Ueno N: **Molecular cloning and functional analysis of a new activin beta subunit: a dorsal mesoderm-inducing activity in Xenopus.** *Biochem Biophys Res Commun* 1995, **210**(2):581-588.
90. Mellor SL, Cranfield M, Ries R, Pedersen J, Cancilla B, de Kretser D, Groome NP, Mason AJ, Risbridger GP: **Localization of activin beta(A)-, beta(B)-, and beta(C)-subunits in human prostate and evidence for formation of new activin heterodimers of beta(C)-subunit.** *J Clin Endocrinol Metab* 2000, **85**(12):4851-4858.
91. Knight PG: **Roles of inhibins, activins, and follistatin in the female reproductive system.** *Front Neuroendocrinol* 1996, **17**(4):476-509.
92. Kingsley DM: **The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms.** *Genes Dev* 1994, **8**(2):133-146.
93. Rivier C, Rivier J, Vale W: **Inhibin-mediated feedback control of follicle-stimulating hormone secretion in the female rat.** *Science* 1986, **234**(4773):205-208.
94. Bicsak TA, Tucker EM, Cappel S, Vaughan J, Rivier J, Vale W, Hsueh AJ: **Hormonal regulation of granulosa cell inhibin biosynthesis.** *Endocrinology* 1986, **119**(6):2711-2719.
95. Xiao S, Robertson DM, Findlay JK: **Effects of activin and follicle-stimulating hormone (FSH)-suppressing protein/follistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulosa cells.** *Endocrinology* 1992, **131**(3):1009-1016.

96. Jaatinen TA, Penttilä TL, Kaipia A, Ekfors T, Parvinen M, Toppari J: **Expression of inhibin alpha, beta A and beta B messenger ribonucleic acids in the normal human ovary and in polycystic ovarian syndrome.** *J Endocrinol* 1994, **143**(1):127-137.
97. Vale W, Rivier J, Vaughan J, McClintock R, Corrigan A, Woo W, Karr D, Spiess J: **Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid.** *Nature* 1986, **321**(6072):776-779.
98. Robertson DM, Foulds LM, Leversha L, Morgan FJ, Hearn MT, Burger HG, Wettenhall RE, de Kretser DM: **Isolation of inhibin from bovine follicular fluid.** *Biochem Biophys Res Commun* 1985, **126**(1):220-226.
99. Gregory SJ, Kaiser UB: **Regulation of gonadotropins by inhibin and activin.** *Semin Reprod Med* 2004, **22**(3):253-267.
100. McLachlan RI, Robertson DM, Healy DL, de Kretser DM, Burger HG: **Plasma inhibin levels during gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation for IVF: a new index of follicular function?** *Lancet* 1986, **1**(8492):1233-1234.
101. Chen YG, Wang Q, Lin SL, Chang CD, Chuang J, Ying SY: **Activin signaling and its role in regulation of cell proliferation, apoptosis, and carcinogenesis.** *Exp Biol Med (Maywood)* 2006, **231**(5):534-544.
102. Risbridger GP, Schmitt JF, Robertson DM: **Activins and inhibins in endocrine and other tumors.** *Endocr Rev* 2001, **22**(6):836-858.
103. Welt CK, Lambert-Messerlian G, Zheng W, Crowley WF, Jr., Schneyer AL: **Presence of activin, inhibin, and follistatin in epithelial ovarian carcinoma.** *J Clin Endocrinol Metab* 1997, **82**(11):3720-3727.
104. Roberts AB, Wakefield LM: **The two faces of transforming growth factor beta in carcinogenesis.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, **100**(15):8621-8623.
105. Wrana JL, Attisano L, Carcamo J, Zentella A, Doody J, Laiho M, Wang XF, Massague J: **TGF beta signals through a heteromeric protein kinase receptor complex.** *Cell* 1992, **71**(6):1003-1014.
106. Wrana JL, Attisano L: **The Smad pathway.** *Cytokine Growth Factor Rev* 2000, **11**(1-2):5-13.
107. Tsukazaki T, Chiang TA, Davison AF, Attisano L, Wrana JL: **SARA, a FYVE domain protein that recruits Smad2 to the TGFbeta receptor.** *Cell* 1998, **95**(6):779-791.
108. Chen YG, Hata A, Lo RS, Wotton D, Shi Y, Pavletich N, Massague J: **Determinants of specificity in TGF-beta signal transduction.** *Genes Dev* 1998, **12**(14):2144-2152.
109. Chen YF, Feng JA, Li P, Xing D, Zhang Y, Serra R, Ambalavanan N, Majid-Hassan E, Oparil S: **Dominant negative mutation of the TGF-beta receptor blocks hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling.** *J Appl Physiol* 2006, **100**(2):564-571.
110. Chen X, Weisberg E, Fridmacher V, Watanabe M, Naco G, Whitman M: **Smad4 and FAST-1 in the assembly of activin-responsive factor.** *Nature* 1997, **389**(6646):85-89.
111. Matzuk MM: **In search of binding--identification of inhibin receptors.** *Endocrinology* 2000, **141**(7):2281-2284.
112. Robertson DM, Hertan R, Farnworth PG: **Is the action of inhibin mediated via a unique receptor?** *Rev Reprod* 2000, **5**(3):131-135.
113. Martens JW, de Winter JP, Timmerman MA, McLuskey A, van Schaik RH, Themmen AP, de Jong FH: **Inhibin interferes with activin signaling at the level of the activin receptor complex in Chinese hamster ovary cells.** *Endocrinology* 1997, **138**(7):2928-2936.
114. Lewis KA, Gray PC, Blount AL, MacConell LA, Wiater E, Bilezikjian LM, Vale W: **Betaglycan binds inhibin and can mediate functional antagonism of activin signalling.** *Nature* 2000, **404**(6776):411-414.

115. Chong H, Pangas SA, Bernard DJ, Wang E, Gitch J, Chen W, Draper LB, Cox ET, Woodruff TK: **Structure and expression of a membrane component of the inhibin receptor system.** *Endocrinology* 2000, **141**(7):2600-2607.
116. Bernard DJ, Chapman SC, Woodruff TK: **Inhibin binding protein (InhBP/p120), betaglycan, and the continuing search for the inhibin receptor.** *Mol Endocrinol* 2002, **16**(2):207-212.
117. Robertson DM, Hayward S, Irby D, Jacobsen J, Clarke L, McLachlan RI, de Kretser DM: **Radioimmunoassay of rat serum inhibin: changes after PMSG stimulation and gonadectomy.** *Mol Cell Endocrinol* 1988, **58**(1):1-8.
118. Anawalt BD, Bebb RA, Matsumoto AM, Groome NP, Illingworth PJ, McNeilly AS, Bremner WJ: **Serum inhibin B levels reflect Sertoli cell function in normal men and men with testicular dysfunction.** *J Clin Endocrinol Metab* 1996, **81**(9):3341-3345.
119. Meunier H, Rivier C, Evans RM, Vale W: **Gonadal and extragonadal expression of inhibin alpha, beta A, and beta B subunits in various tissues predicts diverse functions.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988, **85**(1):247-251.
120. Roberts VJ, Barth S, el-Roeiy A, Yen SS: **Expression of inhibin/activin system messenger ribonucleic acids and proteins in ovarian follicles from women with polycystic ovarian syndrome.** *J Clin Endocrinol Metab* 1994, **79**(5):1434-1439.
121. Meunier H, Cajander SB, Roberts VJ, Rivier C, Sawchenko PE, Hsueh AJ, Vale W: **Rapid changes in the expression of inhibin alpha-, beta A-, and beta B-subunits in ovarian cell types during the rat estrous cycle.** *Mol Endocrinol* 1988, **2**(12):1352-1363.
122. Davis SR, Dench F, Nikolaidis I, Clements JA, Forage RG, Krozowski Z, Burger HG: **Inhibin A-subunit gene expression in the ovaries of immature female rats is stimulated by pregnant mare serum gonadotrophin.** *Biochem Biophys Res Commun* 1986, **138**(3):1191-1195.
123. Mylonas I, Jeschke U, Wiest I, Hoening A, Vogl J, Shabani N, Kuhn C, Schulze S, Kupka MS, Friese K: **Inhibin/activin subunits alpha, beta-A and beta-B are differentially expressed in normal human endometrium throughout the menstrual cycle.** *Histochem Cell Biol* 2004, **122**(5):461-471.
124. Roberts VJ, Barth S, el-Roeiy A, Yen SS: **Expression of inhibin/activin subunits and follistatin messenger ribonucleic acids and proteins in ovarian follicles and the corpus luteum during the human menstrual cycle.** *J Clin Endocrinol Metab* 1993, **77**(5):1402-1410.
125. Welt CK, Martin KA, Taylor AE, Lambert-Messerlian GM, Crowley WF, Jr., Smith JA, Schoenfeld DA, Hall JE: **Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal-follicular transition: evidence for FSH control of inhibin B in normal women.** *J Clin Endocrinol Metab* 1997, **82**(8):2645-2652.
126. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, Rodger FE, Mather JP, McNeilly AS: **Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle.** *J Clin Endocrinol Metab* 1996, **81**(4):1401-1405.
127. Ala-Fossi SL, Maenpaa J, Blauer M, Aine R, Tuohimaa P, Punnonen R: **Inhibin A and B in peri- and postmenopause.** *Maturitas* 1998, **30**(3):273-281.
128. Demura R, Suzuki T, Tajima S, Mitsuhashi S, Odagiri E, Demura H, Ling N: **Human plasma free activin and inhibin levels during the menstrual cycle.** *J Clin Endocrinol Metab* 1993, **76**(4):1080-1082.
129. Bergada I, Bergada C, Campo S: **Role of inhibins in childhood and puberty.** *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001, **14**(4):343-353.

130. Overlie I, Morkrid L, Andersson AM, Skakkebaek NE, Moen MH, Holte A: **Inhibin A and B as markers of menopause: a five-year prospective longitudinal study of hormonal changes during the menopausal transition.** *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005, **84**(3):281-285.
131. van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH, Themmen AP, te Velde ER: **Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition.** *Menopause* 2004, **11**(6 Pt 1):601-606.
132. Burger HG, Cahir N, Robertson DM, Groome NP, Dudley E, Green A, Dennerstein L: **Serum inhibins A and B fall differentially as FSH rises in perimenopausal women.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998, **48**(6):809-813.
133. Baccarelli A, Morpurgo PS, Corsi A, Vaghi I, Fanelli M, Cremonesi G, Vaninetti S, Beck-Peccoz P, Spada A: **Activin A serum levels and aging of the pituitary-gonadal axis: a cross-sectional study in middle-aged and elderly healthy subjects.** *Exp Gerontol* 2001, **36**(8):1403-1412.
134. Loria P, Petraglia F, Concari M, Bertolotti M, Martella P, Luisi S, Grisolia C, Foresta C, Volpe A, Genazzani AR *et al*: **Influence of age and sex on serum concentrations of total dimeric activin A.** *Eur J Endocrinol* 1998, **139**(5):487-492.
135. Cobellis L, Luisi S, Pezzani I, Reis FM, De Leo V, Petraglia F: **Serum inhibin A, inhibin B, and pro-alphaC levels are altered after surgically or pharmacologically induced menopause.** *Fertil Steril* 2002, **77**(4):745-749.
136. Di Loreto C, Reis FM, Cataldi P, Zuiani C, Luisi S, Beltrami CA, Petraglia F: **Human mammary gland and breast carcinoma contain immunoreactive inhibin/activin subunits: evidence for a secretion into cystic fluid.** *Eur J Endocrinol* 1999, **141**(2):190-194.
137. Luisi S, Calonaci G, Florio P, Lombardi I, De Felice C, Bagnoli F, Petraglia F: **Identification of activin A and follistatin in human milk.** *Growth Factors* 2002, **20**(3):147-150.
138. Welt C, Sidis Y, Keutmann H, Schneyer A: **Activins, inhibins, and follistatins: from endocrinology to signaling. A paradigm for the new millennium.** *Exp Biol Med (Maywood)* 2002, **227**(9):724-752.
139. Matzuk MM, Finegold MJ, Su JG, Hsueh AJ, Bradley A: **Alpha-inhibin is a tumour-suppressor gene with gonadal specificity in mice.** *Nature* 1992, **360**(6402):313-319.
140. Robertson DM, Stephenson T, Pruysers E, Burger HG, McCloud P, Tsigos A, Groome N, Mamers P, McNeilage J, Jobling T *et al*: **Inhibins/activins as diagnostic markers for ovarian cancer.** *Mol Cell Endocrinol* 2002, **191**(1):97-103.
141. Cooke I, O'Brien M, Charnock FM, Groome N, Ganesan TS: **Inhibin as a marker for ovarian cancer.** *Br J Cancer* 1995, **71**(5):1046-1050.
142. Robertson DM, Cahir N, Burger HG, Mamers P, Groome N: **Inhibin forms in serum from postmenopausal women with ovarian cancers.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999, **50**(3):381-386.
143. Mylonas I, Makovitzky J, Hoeing A, Richter DU, Vogl J, Schulze S, Jeschke U, Briese V, Friese K: **Inhibin/activin subunits beta-A (-betaA) and beta-B (-betaB) are differentially localised in normal, hyperplastic and malignant human endometrial tissue.** *Acta Histochem* 2006, **108**(1):1-11.
144. Mylonas I, Worbs S, Shabani N, Kuhn C, Kunze S, Schulze S, Dian D, Gingelmaier A, Schindlbeck C, Bruning A *et al*: **Inhibin-alpha subunit is an independent prognostic parameter in human endometrial carcinomas: Analysis of inhibin/activin-alpha, -betaA and -betaB subunits in 302 cases.** *Eur J Cancer* 2009.

145. McCluggage WG, Ashe P, McBride H, Maxwell P, Sloan JM: **Localization of the cellular expression of inhibin in trophoblastic tissue.** *Histopathology* 1998, **32**(3):252-256.
146. Petraglia F, Sawchenko P, Lim AT, Rivier J, Vale W: **Localization, secretion, and action of inhibin in human placenta.** *Science* 1987, **237**(4811):187-189.
147. Shih IM, Kurman RJ: **Immunohistochemical localization of inhibin-alpha in the placenta and gestational trophoblastic lesions.** *Int J Gynecol Pathol* 1999, **18**(2):144-150.
148. Minami S, Yamoto M, Nakano R: **Immunohistochemical localization of inhibin-activin subunits in hydatidiform mole and invasive mole.** *Obstet Gynecol* 1993, **82**(3):414-418.
149. Mylonas I, Jeschke U, Shabani N, Kuhn C, Friese K, Gerber B: **Inhibin/activin subunits (inhibin-alpha, -betaA and -betaB) are differentially expressed in human breast cancer and their metastasis.** *Oncol Rep* 2005, **13**(1):81-88.
150. Liu QY, Niranjana B, Gomes P, Gomm JJ, Davies D, Coombes RC, Buluwela L: **Inhibitory effects of activin on the growth and morphogenesis of primary and transformed mammary epithelial cells.** *Cancer Res* 1996, **56**(5):1155-1163.
151. Cocolakis E, Lemay S, Ali S, Lebrun JJ: **The p38 MAPK pathway is required for cell growth inhibition of human breast cancer cells in response to activin.** *J Biol Chem* 2001, **276**(21):18430-18436.
152. Reis FM, Cobellis L, Tameirao LC, Anania G, Luisi S, Silva IS, Gioffre W, Di Blasio AM, Petraglia F: **Serum and tissue expression of activin a in postmenopausal women with breast cancer.** *J Clin Endocrinol Metab* 2002, **87**(5):2277-2282.
153. Reis FM, Luisi S, Carneiro MM, Cobellis L, Federico M, Camargos AF, Petraglia F: **Activin, inhibin and the human breast.** *Mol Cell Endocrinol* 2004, **225**(1-2):77-82.
154. Kalkhoven E, Roelen BA, de Winter JP, Mummery CL, van den Eijnden-van Raaij AJ, van der Saag PT, van der Burg B: **Resistance to transforming growth factor beta and activin due to reduced receptor expression in human breast tumor cell lines.** *Cell Growth Differ* 1995, **6**(9):1151-1161.
155. Burdette JE, Jeruss JS, Kurley SJ, Lee EJ, Woodruff TK: **Activin A mediates growth inhibition and cell cycle arrest through Smads in human breast cancer cells.** *Cancer Res* 2005, **65**(17):7968-7975.
156. Leto G, Incorvaia L, Badalamenti G, Tumminello FM, Gebbia N, Flandina C, Crescimanno M, Rini G: **Activin A circulating levels in patients with bone metastasis from breast or prostate cancer.** *Clin Exp Metastasis* 2006, **23**(2):117-122.
157. Muller H: **[Effects of adjuvant chemotherapy of breast cancer on gonadal function].** *Zentralbl Gynakol* 1990, **112**(13):795-801.
158. Kollmannsberger C, C. B: **Supportivtherapie bei malignen Erkrankungen.** In: *Gonadotoxizität nach Chemotherapie: Pathophysiologie und Symptomatik.* Edited by Link HPD: ONKODIN in Kooperation mit "Deutscher Ärzte-Verlag"; 2006.
159. Strowitzki T, Vogt P (eds.): **Genetik des Premature-ovarian-failure-Syndroms in Gynäkologische Endokrinologie.** Heidelberg: Springer Verlag; 2003.
160. Fassnacht W, Mempel A, Strowitzki T, Vogt PH: **Premature ovarian failure (POF) syndrome: towards the molecular clinical analysis of its genetic complexity.** *Curr Med Chem* 2006, **13**(12):1397-1410.
161. Bines J, Oleske DM, Cobleigh MA: **Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer.** *J Clin Oncol* 1996, **14**(5):1718-1729.
162. Chapman RM: **Effect of cytotoxic therapy on sexuality and gonadal function.** *Semin Oncol* 1982, **9**(1):84-94.

163. Gadducci A, Cosio S, Genazzani AR: **Ovarian function and childbearing issues in breast cancer survivors.** *Gynecol Endocrinol* 2007, **23**(11):625-631.
164. Lutchman Singh K, Muttukrishna S, Stein RC, McGarrigle HH, Patel A, Parikh B, Groome NP, Davies MC, Chatterjee R: **Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer.** *Br J Cancer* 2007, **96**(12):1808-1816.
165. Su HI, Sammel MD, Green J, Velders L, Stankiewicz C, Matro J, Freeman EW, Gracia CR, DeMichele A: **Antimullerian hormone and inhibin B are hormone measures of ovarian function in late reproductive-aged breast cancer survivors.** *Cancer* 2010, **116**(3):592-599.
166. Luisi S, Ciani V, Podfigurna-Stopa A, Lazzeri L, De Pascalis F, Meczekalski B, Petraglia F: **Serum anti-Mullerian hormone, inhibin B, and total inhibin levels in women with hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa.** *Gynecol Endocrinol* 2012, **28**(1):34-38.
167. Anders C, Marcom PK, Peterson B, Gu L, Unruhe S, Welch R, Lyons P, Behera M, Copland S, Kimmick G *et al*: **A pilot study of predictive markers of chemotherapy-related amenorrhea among premenopausal women with early stage breast cancer.** *Cancer Invest* 2008, **26**(3):286-295.
168. **SUCCESS-Studie Kurzprotokoll** [http://www.success-studie.de/a/downloads/study/Kita2006-V1_2.pdf]
169. Groome N: **Ultrasensitive two-site assays for inhibin-A and activin-A using monoclonal antibodies raised to synthetic peptides.** *J Immunol Methods* 1991, **145**(1-2):65-69.
170. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Priddle J, Weaver K, McNeilly AS: **Quantification of inhibin pro-alpha C-containing forms in human serum by a new ultrasensitive two-site enzyme-linked immunosorbent assay.** *J Clin Endocrinol Metab* 1995, **80**(10):2926-2932.
171. Su HI: **Measuring ovarian function in young cancer survivors.** *Minerva Endocrinol* 2010, **35**(4):259-270.
172. Anderson RA, Themmen AP, Al-Qahtani A, Groome NP, Cameron DA: **The effects of chemotherapy and long-term gonadotrophin suppression on the ovarian reserve in premenopausal women with breast cancer.** *Hum Reprod* 2006, **21**(10):2583-2592.
173. Burger HG, Hale GE, Robertson DM, Dennerstein L: **A review of hormonal changes during the menopausal transition: focus on findings from the Melbourne Women's Midlife Health Project.** *Hum Reprod Update* 2007, **13**(6):559-565.
174. Petraglia F, Hartmann B, Luisi S, Florio P, Kirchengast S, Santuz M, Genazzani AD, Genazzani AR: **Low levels of serum inhibin A and inhibin B in women with hypergonadotropic amenorrhea and evidence of high levels of activin A in women with hypothalamic amenorrhea.** *Fertil Steril* 1998, **70**(5):907-912.
175. Liang X, Huuskonen J, Hajivandi M, Manzanedo R, Predki P, Amshey JR, Pope RM: **Identification and quantification of proteins differentially secreted by a pair of normal and malignant breast-cancer cell lines.** *Proteomics* 2009, **9**(1):182-193.
176. Kim YI, Shim J, Kim BH, Lee SJ, Lee HK, Cho C, Cho BN: **Transcriptional silencing of the inhibin-alpha gene in human gastric carcinoma cells.** *Int J Oncol* 2012, **41**(2):690-700.
177. Hofland J, Feelders RA, van der Wal R, Kerstens MN, Haak HR, de Herder WW, de Jong FH: **Serum inhibin pro-alphaC is a tumor marker for adrenocortical carcinomas.** *Eur J Endocrinol* 2012, **166**(2):281-289.
178. Thompson TB, Cook RW, Chapman SC, Jardetzky TS, Woodruff TK: **Beta A versus beta B: is it merely a matter of expression?** *Mol Cell Endocrinol* 2004, **225**(1-2):9-17.

179. Walton KL, Makanji Y, Harrison CA: **New insights into the mechanisms of activin action and inhibition.** *Mol Cell Endocrinol* 2012, **359**(1-2):2-12.
180. Makanji Y, Temple-Smith PD, Walton KL, Harrison CA, Robertson DM: **Inhibin B is a more potent suppressor of rat follicle-stimulating hormone release than inhibin a in vitro and in vivo.** *Endocrinology* 2009, **150**(10):4784-4793.
181. Petraglia F, Luisi S, Pautier P, Sabourin JC, Rey R, Lhomme C, Bidart JM: **Inhibin B is the major form of inhibin/activin family secreted by granulosa cell tumors.** *J Clin Endocrinol Metab* 1998, **83**(3):1029-1032.
182. Vihko KK, Blauer M, Puistola U, Tuohimaa P: **Activin B in patients with granulosa cell tumors: serum levels in comparison to inhibin.** *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003, **82**(6):570-574.
183. Crofton PM, Thomson AB, Evans AE, Groome NP, Bath LE, Kelnar CJ, Wallace WH: **Is inhibin B a potential marker of gonadotoxicity in prepubertal children treated for cancer?** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003, **58**(3):296-301.
184. Liu P, Menon K, Alvarez E, Lu K, Teicher BA: **Transforming growth factor-beta and response to anticancer therapies in human liver and gastric tumors in vitro and in vivo.** *Int J Oncol* 2000, **16**(3):599-610.
185. Kim YJ, Hwang JS, Hong YB, Bae I, Seong YS: **Transforming growth factor beta receptor I inhibitor sensitizes drug-resistant pancreatic cancer cells to gemcitabine.** *Anticancer Res* 2012, **32**(3):799-806.
186. Ueda Y, Wang S, Dumont N, Yi JY, Koh Y, Arteaga CL: **Overexpression of HER2 (erbB2) in human breast epithelial cells unmasks transforming growth factor beta-induced cell motility.** *J Biol Chem* 2004, **279**(23):24505-24513.
187. Landis MD, Seachrist DD, Montanez-Wiscovich ME, Danielpour D, Keri RA: **Gene expression profiling of cancer progression reveals intrinsic regulation of transforming growth factor-beta signaling in ErbB2/Neu-induced tumors from transgenic mice.** *Oncogene* 2005, **24**(33):5173-5190.
188. Seder CW, Hartojo W, Lin L, Silvers AL, Wang Z, Thomas DG, Giordano TJ, Chen G, Chang AC, Orringer MB *et al*: **Upregulated INHBA expression may promote cell proliferation and is associated with poor survival in lung adenocarcinoma.** *Neoplasia* 2009, **11**(4):388-396.
189. Yoshinaga K, Mimori K, Yamashita K, Utsunomiya T, Inoue H, Mori M: **Clinical significance of the expression of activin A in esophageal carcinoma.** *Int J Oncol* 2003, **22**(1):75-80.
190. Liu SG, Li HC, Zhao BS, Cao F: **[Expression of activin A in tissue and serum of patients with esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance].** *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2013, **35**(11):843-847.
191. Hoda MA, Munzker J, Ghanim B, Schelch K, Klikovits T, Laszlo V, Sahin E, Bedeir A, Lackner A, Dome B *et al*: **Suppression of activin A signals inhibits growth of malignant pleural mesothelioma cells.** *Br J Cancer* 2012, **107**(12):1978-1986.
192. Petraglia F, Florio P, Luisi S, Gallo R, Gadducci A, Vigano P, Di Blasio AM, Genazzani AR, Vale W: **Expression and secretion of inhibin and activin in normal and neoplastic uterine tissues. High levels of serum activin A in women with endometrial and cervical carcinoma.** *J Clin Endocrinol Metab* 1998, **83**(4):1194-1200.
193. Thissen JP, Loumaye A: **[Role of Activin A and Myostatin in cancer cachexia].** *Ann Endocrinol (Paris)* 2013, **74**(2):79-81.
194. Chen JL, Walton KL, Winbanks CE, Murphy KT, Thomson RE, Makanji Y, Qian H, Lynch GS, Harrison CA, Gregorevic P: **Elevated expression of activins promotes muscle wasting and cachexia.** *FASEB J* 2014, **28**(4):1711-1723.

195. Bonomi L, Brown M, Ungerleider N, Muse M, Matzuk MM, Schneyer A: **Activin B regulates islet composition and islet mass but not whole body glucose homeostasis or insulin sensitivity.** *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012, **303**(5):E587-596.
196. Dani C: **Activins in adipogenesis and obesity.** *Int J Obes (Lond)* 2013, **37**(2):163-166.
197. Besson-Fournier C, Latour C, Kautz L, Bertrand J, Ganz T, Roth MP, Coppin H: **Induction of activin B by inflammatory stimuli up-regulates expression of the iron-regulatory peptide hepcidin through Smad1/5/8 signaling.** *Blood* 2012, **120**(2):431-439.
198. Janni W, Gerber B, Sommer H, Untch M, Krause A, Dian D, Runnebaum I, Rack B, Friese K: **Therapie des primären, invasiven Mammakarzinoms.** *Dtsch Arzteb* 2005, **41**(102): 2795–2804.
199. Uehiro N, Horii R, Iwase T, Tanabe M, Sakai T, Morizono H, Kimura K, Iijima K, Miyagi Y, Nishimura S *et al*: **Validation study of the UICC TNM classification of malignant tumors, seventh edition, in breast cancer.** *Breast Cancer* 2014, **21**(6):748-753.

7 Anhang

7.1 Tabellen zum Mammakarzinom

Tabelle 1. WHO-Klassifikation der invasiven Mammakarzinome [41].

Invasives Karzinom, no special type (NST)
- pleomorphes Karzinom
- Karzinom mit osteoklastenartigen Riesenzellen
- Karzinom mit chorionkarzinomartigen Merkmalen
- Karzinom mit melanotischen Merkmalen
Invasiv lobuläres Karzinom
Tubuläres Karzinom
Kribriiformes Karzinom
Muzinöses Karzinom
Karzinom mit medullären Eigenschaften
Karzinom mit apokriner Differenzierung
Karzinom mit Siegelringzelldifferenzierung
Invasiv mikropapilläres Karzinom
Metaplastisches Karzinom
- hoch differenziertes adenosquamöses Karzinom
- fibromatoseartiges metaplastisches Karzinom
- Plattenepithelkarzinom
- Spindelzellkarzinom
- metaplastisches Karzinom mit mesenchymaler Differenzierung
- gemischtes metaplastisches Karzinom
- myoepithelialis Karzinom
Karzinom mit neuroendokrinen Eigenschaften
- neuroendokriner Tumor, gut differenziert
- neuroendokrines Karzinom, schlecht differenziert (kleinzelliges Karzinom)
- Karzinom mit neuroendokriner Differenzierung
Sekretorisches Karzinom
Invasiv papilläres Karzinom
Azinuszellkarzinom
Mukoepidermoides Karzinom
Polymorphes Karzinom
Onkozytäres Karzinom
Lipidreiches Karzinom
Glycogenreiches Klarzellkarzinom
Sebazeöses Karzinom

Tabelle 2. TNM-Klassifikation Mammakarzinoms [198].

	T (Größe des Primärtumors)
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
TiS	Carcinoma in situ
- TiS (DCIS)	- duktales Carcinoma in situ
- TiS (LCIS)	- lobuläres Carcinoma in situ
- TiS (Paget)	- Paget-Erkrankung der Brustwarze ohne nachweisbaren Tumor
T1	Tumor < 2,0 cm in größter Ausdehnung
- T1mic	- Mikroinvasion bis $\leq 0,1$ cm
- T1a	- Maximaler Durchmesser > 0,1 cm bis 0,5 cm
- T1b	- Maximaler Durchmesser > 0,5 cm bis 1,0 cm
- T1c	- Maximaler Durchmesser > 1,0 cm bis 2,0 cm
T2	Tumor mit max. Durchmesser > 2,0 cm bis 5 cm
T3	Tumor mit max. Durchmesser > 5 cm
T4	Tumor jeglicher Größe mit direkter Infiltration in Brustwand (T4a), Haut (T4b) oder beides (T4c)
	Inflammatorisches Mammakarzinom (T4d)

	N (Befallene Lymphknoten)
NX	Regionäre Lymphknoten (Lk) können nicht beurteilt werden
N0	Keine befallenen Lk
N1mi	Lk-Mikrometastasen > 0,2 mm bis maximal 2mm
N1	Metastasen in 1-3 verschieblichen ipsilateralen axillären Lk (N1a), ipsilaterale Mikrometastase(n) in Lk entlang A.mammaria interna (N1b) oder beides (N1c)
N2	Metastasen in 4-9 ipsilateralen axillären Lk, untereinander oder an anderen Strukturen fixiert (N2a), oder ipsilaterale klinisch erkennbare Metastase(n) in Lk entlang der A.mammaria interna (N2b) ohne gleichzeitige axilläre Lk-metastasen
N3	Metastasen in ≥ 10 ipsilateralen axillären Lk oder ipsilateralen infraklavikulären Lk (N3a), Lk entlang der ipsilateralen A.mammaria interna + axilläre Lk (N3b) oder ipsilaterale supraklavikuläre Lk (N3c)

	M (Fernmetastasen)
MX	Vorliegen von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 3. Stadieneinteilung des Mammakarzinoms nach UICC [199].

	Stadieneinteilung nach UICC		
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium IIA	T0, T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Stadium IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T0, T1, T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
Stadium IIIB	T4	N0, N1, N2	M0
Stadium IIIC	Jedes T	N3	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

7.2 SUCCESS A-Studie [168]

7.2.1 Einschlusskriterien

- Primäres epitheliales invasives Mammakarzinom pT1-4, pM0
- Histologischer Nachweis axillärer Lymphknotenmetastasen pN1-3 oder nodal negative high-risk Patientinnen N0/X, definiert als pT \geq 2 oder histopathologisches Grading G3 oder Alter \leq 35 oder negativer Hormonrezeptorstatus
- R0-Resektion des Primärtumors (Resektionsränder frei von invasiven Karzinomanteilen) vor maximal sechs Wochen
- Frauen älter als 18 Jahre
- Allgemeinzustand \leq 2 auf der ECOG-Skala (Eastern Cooperative Oncology Group)
- Adäquate Knochenmarksreserve: Leukozyten \geq 3.0 x 10⁹/l und Thrombozyten \geq 100 x 10⁹/l
- GOT, GPT und Alkalische Phosphatase innerhalb 1,5-fachem Normalwert des jeweiligen Referenzlabors
- Gewährleistung regelmäßiger Nachsorge während der Studiendauer
- Verständnis des Studienkonzepts und schriftliche Einverständniserklärung

7.2.2 Ausschlusskriterien

- Inflammatorisches Mammakarzinom
- Vorangegangene oder gleichzeitige Therapie mit anderen zytotoxischen oder antineoplastischen Medikamenten, die nicht innerhalb des Protokolls vorgesehen sind
- Vorgeschichte von Erkrankungen mit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel wie zum Beispiel Morbus Paget und primärer Hyperparathyreoidismus
- Vorausgegangene Behandlung mit Bisphosphonaten innerhalb der letzten sechs Monate
- Eingeschränkte Nierenfunktion, nachgewiesen durch berechnete Kreatinin-Clearance von ≤ 30 ml/min, berechnet nach der Cockcroft-Gault-Formel
- Zweitkarzinom (außer In-situ-Karzinom der Cervix uteri oder adäquat behandeltes Basaliom)
- Manifeste kardiale Vorschädigung (Kardiomyopathie mit verminderter Ventrikelfunktion (NYHA > II), therapiebedürftige Arrhythmien mit Einfluss auf die LVEF (Linksventrikuläre Ejektionsfraktion), Z.n. Myokardinfarkt oder Angina Pectoris innerhalb der letzten sechs Monate, medikamentös nicht eingestellter Hypertonus)
- Jede bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Docetaxel, Epirubicin, Cyclophosphamid, Fluorouracil, Gemcitabin oder sonstige Studienmedikamente
- Behandlung mit einem zu untersuchenden Medikament in den letzten drei Wochen vor Studienbeginn
- Patientinnen in Schwangerschaft oder Stillzeit (bei prämenopausalen Frauen muss Kontrazeption gewährleistet werden: Intrauterin pessare, operative Sterilisation oder, nur in hormonrezeptornegativen Mammakarzinompatientinnen, orale, subkutane oder transvaginale, nicht östrogenhaltige Kontrazeptiva)
- Bestehende dentale Beschwerden, Kiefer(Mandibula/Maxilla)- und Zahnentzündungen oder akute oder vorbestehende Kiefernekrosen, von exponierten Knochen in der Mundhöhle, oder von langsam heilenden Wunden nach Zahnbehandlungen
- Kürzlich durchgeführte (sechs Wochen) oder geplante Zahn- oder Kieferoperationen (Extraktion, Implantate)

7.2.3 Studiendesign der SUCCESS A-Studie

Randomisation A:

AA: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und

Cyclophosphamid 500mg/m² i.v. KOF (Körperoberfläche) q3w (alle drei Wochen) x 3
gefolgt von Docetaxel 75mg/m² und Gemcitabin 1000mg/m² i.v. KOF d1,8 q3w x 3

AB: 5-Fluorouracil 500mg/m² und Epirubicin 100mg/m² und Cyclophosphamid 500mg/m²
i.v. KOF q3w x 3 gefolgt von Docetaxel 100mg/m² i.v. KOF q3w x 3

Randomisation B:

BA: Zoledronat 4mg i.v. q3m x 24 Monate

gefolgt von Zoledronat 4mg i.v. q6m x 36 Monate

BB: Zoledronat 4mg i.v. q3m x 24 Monate

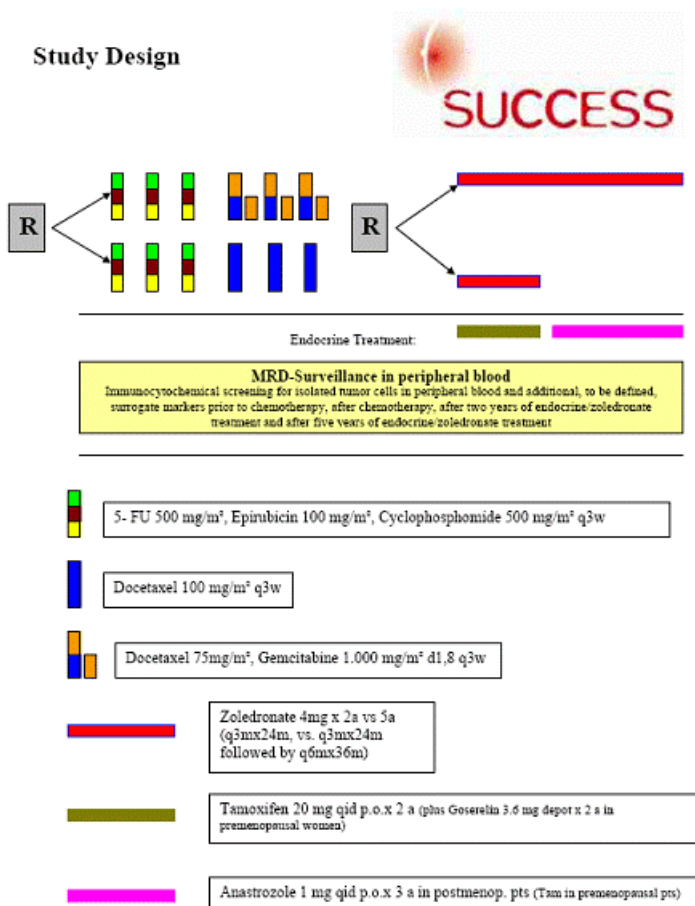


Abbildung 28. Studiendesign der SUCCESS A-Studie [168].

7.3 Verwendete Materialien

In **Tabelle 4** sind die verwendeten Materialien, die im Rahmen dieser Arbeit benutzt wurden, aufgelistet.

Tabelle 4. Verwendete Materialien im Rahmen dieser Arbeit.

ELISA	Bezugsquelle
Active® Free Inhibin A ELISA Kit IVD REF DSL-10-28100	Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA
Active® Free Inhibin B ELISA Kit IVD REF DSL-10-84100i	Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA
Active® US Inhibin A ELISA Kit IVD REF DSL-10-18200i	Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA
Active® Free Activin A ELISA Kit REF DSL-10-85100	Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA
Active® Free Activin B ELISA Kit REF DSL-10-86100	Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA
Active® Free Activin AB ELISA Kit REF DSL-10-86200	Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA
Aqua ad iniectabilia Braun Zul.Nr.: 6724092.00.00	B.Braun Melsungen AG, Melsungen

Gebrauchs- und Verbrauchsmaterial	Bezugsquelle
Eppendorf Research Variable Pipette 0,5-10 µl	Eppendorf, Hamburg
Variable Pipette 10-100 µl	Eppendorf, Hamburg
Variable Pipette 20-200 µl	Eppendorf, Hamburg
Variable Pipette 100-1000 µl	Eppendorf, Hamburg
Research Acht-Kanal-Pipette 30- 300 µl	Eppendorf, Hamburg
ep T.I.P.S Pipettenspitzen, steril 10 µl	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen, steril 100 µl	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen, steril 100-1000 µl	Eppendorf, Hamburg
Vari- Shaker #G935	Dynatech Guernsey, Großbritannien
Photometer Dynex MRX II	Dynex Technologies, Virginia, USA

7.4 Nicht-signifikante Ergebnisse

7.4.1 Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin A

Tabelle 5 und 6 zeigen die nicht-signifikanten Ergebnisse von Inhibin A entsprechend des statistischen Verfahrens für zwei (Mann-Whitney-Test) beziehungsweise mehrere unabhängige Stichproben (Mann-Whitney-Test).

Tabelle 5. Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin A im Mann-Whitney-Test für zwei unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemotherapie	Zwei Jahre nach Chemotherapie
Patientinnenalter	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
Alter <52 Jahre	140,67	116,55	125,93
Alter >52 Jahre	124,18	116,09	112,2
<i>p-Wert</i>	<i>0,062</i>	<i>1,00</i>	<i>0,249</i>
Her2/neu-Status	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
Her2/neu-positiv	133,45	110,58	121,53
Her2/neu-negativ	130,73	119,14	116,46
<i>p-Wert</i>	<i>0,532</i>	<i>0,199</i>	<i>0,871</i>
Hormonrezeptorstatus	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
Hormonrezeptor positiv	141,08	117,11	126,24
Hormonrezeptor negativ	124,86	115,74	112,76
<i>p-Wert</i>	<i>0,347</i>	<i>0,227</i>	<i>0,245</i>
Tamoxifentherapie	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
Tamoxifen	125,48	115,64	125,06
Kein Tamoxifen	133,51	116,49	116,05
<i>p-Wert</i>	<i>0,901</i>	<i>0,258</i>	<i>0,636</i>
Goserelintherapie	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
Goserelin	99,00	101,05	104,57
Kein Goserelin	135,33	117,98	119,66
<i>p-Wert</i>	<i>0,112</i>	<i>0,429</i>	<i>0,196</i>
Anastrozoltherapie	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
Anastrozol	139,48	115,05	110,72
Kein Anastrozol	131,29	116,33	118,41
<i>p-Wert</i>	<i>0,552</i>	<i>0,897</i>	<i>0,759</i>

Tabelle 6. Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin A im Kruskal-Wallis-Test für mehrere unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemotherapie	Zwei Jahre nach Chemotherapie
Körpergröße	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
<i>p-Wert</i>	0,478	0,367	0,590
Gewicht	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
<i>p-Wert</i>	0,396	0,648	0,697
Tumorgroße	Inhibin A 1	Inhibin A 2	Inhibin A 3
<i>p-Wert</i>	0,325	0,470	0,422

7.4.2 Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A)

Tabelle 7 und 8 zeigen die nicht-signifikanten Ergebnisse von Inhibin A im ultrasensitiven Nachweis (US Inhibin A).

Tabelle 7. Nicht-signifikante Ergebnisse von US Inhibin A im Mann-Whitney-Test für zwei unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemotherapie	Zwei Jahre nach Chemotherapie
Amenorrhö	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
Amenorrhö	13,01	4,04	3,76
Keine Amenorrhö	30,38	4,11	0,06
<i>p-Wert</i>	0,095	0,516	0,251
Chemotherapieschema	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
FEC-DG	25,01	8,08	6,53
FEC-DOC	8,57	1,36	1,30
<i>p-Wert</i>	0,102	0,276	0,076
Her2/neu-Status	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
Her2/neu-positiv	19,41	0,26	0,81
Her2/neu-negativ	12,74	5,95	4,69
<i>p-Wert</i>	0,694	0,729	0,116
Trastuzumabtherapie	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
Trastuzumab	25,38	0,09	1,12
Kein Trastuzumab	12,05	5,25	4,08
<i>p-Wert</i>	0,477	0,192	0,174
Hormonrezeptorstatus	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
Hormonrezeptor positiv	21,14	4,92	5,98
Hormonrezeptor negativ	10,34	3,47	1,67
<i>p-Wert</i>	0,088	0,744	0,744
Tamoxifentherapie	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
Tamoxifen	12,75	7,60	3,92
Kein Tamoxifen	15,46	2,97	3,23
<i>p-Wert</i>	0,672	0,328	0,901
Goserelintherapie	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
Goserelin	9,83	2,12	1,88
Kein Goserelin	15,38	4,26	3,56
<i>p-Wert</i>	0,761	0,472	0,920

Anastrozoltherapie	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
Anastrozol	9,95	0,05	0,06
Kein Anastrozol	14,98	4,19	3,51
<i>p-Wert</i>	0,828	0,069	0,621

Tabelle 8. Nicht-signifikante Ergebnisse von US Inhibin A im Kruskal-Wallis-Test für mehrere unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemo- therapie	Zwei Jahre nach Chemo- therapie
Körpergröße	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
<i>p-Wert</i>	0,608	0,359	0,526
Gewicht	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
<i>p-Wert</i>	0,665	0,497	0,306
Tumorgroße	US Inhibin A 1	US Inhibin A 2	US Inhibin A 3
<i>p-Wert</i>	0,213	0,298	0,216

7.4.3 Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin B

Tabelle 9 und 10 zeigen die nicht-signifikanten Ergebnisse von Inhibin B.

Tabelle 9. Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin B im Mann-Whitney-Test für zwei unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemotherapie	Zwei Jahre nach Chemotherapie
Amenorrhö	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
Amenorrhö	41,20	35,30	12,98
Keine Amenorrhö	16,16	34,17	17,75
<i>p-Wert</i>	0,761	0,920	0,222
Chemotherapieschema	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
FEC-DG	57,34	36,28	13,85
FEC-DOC	27,17	34,46	13,19
<i>p-Wert</i>	0,707	0,550	0,842
Her2/neu-Status	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
Her2/neu-positiv	32,26	16,45	15,93
Her2/neu-negativ	41,47	44,56	12,22
<i>p-Wert</i>	0,945	0,627	0,562
Trastuzumabtherapie	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
Trastuzumab	28,49	11,02	18,44
Kein Trastuzumab	41,25	42,54	11,94
<i>p-Wert</i>	0,773	0,813	0,813
Hormonrezeptorstatus	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
Hormonrezeptor positiv	56,48	45,59	17,41
Hormonrezeptor negativ	25,99	28,25	10,82
<i>p-Wert</i>	0,245	0,647	0,616
Tamoxifentherapie	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
Tamoxifen	63,83	31,34	20,81
Kein Tamoxifen	30,59	36,36	11,22
<i>p-Wert</i>	0,862	0,636	0,940
Goserelintherapie	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
Goserelin	30,22	35,55	13,92
Kein Goserelin	39,58	35,15	13,40
<i>p-Wert</i>	0,350	0,761	0,710
Anastrozoltherapie	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
Anastrozol	7,53	0,50	5,12
Kein Anastrozol	39,72	36,38	13,74
<i>p-Wert</i>	0,966	0,483	1,000

Tabelle 10. Nicht-signifikante Ergebnisse von Inhibin B im Kruskal-Wallis-Test für mehrere unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemo- therapie	Zwei Jahre nach Chemo- therapie
Körpergröße	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
<i>p-Wert</i>	0,587	0,140	0,423
Gewicht	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
<i>p-Wert</i>	0,416	0,312	0,558
Tumorgroße	Inhibin B 1	Inhibin B 2	Inhibin B 3
<i>p-Wert</i>	0,400	0,082	0,147

7.4.4 Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin A

Tabelle 11 und 12 zeigen die nicht-signifikanten Ergebnisse von Activin A.

Tabelle 11. Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin A im Mann-Whitney-Test für zwei unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemotherapie	Zwei Jahre nach Chemotherapie
Patientinnenalter	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
Alter <52 Jahre	35,04	38,54	29,42
Alter >52 Jahre	45,67	50,09	43,67
<i>p-Wert</i>	0,350	0,793	0,185
Menopausenstatus	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
Prämenopausal	36,87	44,50	33,65
Postmenopausal	45,87	45,76	41,89
<i>p-Wert</i>	0,475	0,589	0,398
Amenorrhö	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
Amenorrhö	41,32	43,67	37,14
Keine Amenorrhö	37,35	57,81	40,68
<i>p-Wert</i>	0,866	0,196	0,920
Hormonrezeptorstatus	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
Hormonrezeptor positiv	38,48	48,34	35,33
Hormonrezeptor negativ	42,38	42,92	38,94
<i>p-Wert</i>	0,512	0,368	0,645
Tamoxifentherapie	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
Tamoxifen	41,13	43,13	38,26
Kein Tamoxifen	40,83	45,68	37,27
<i>p-Wert</i>	0,978	0,288	0,766
Goserelintherapie	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
Goserelin	42,94	51,44	42,88
Kein Goserelin	40,67	44,38	36,90
<i>p-Wert</i>	0,532	0,635	0,743
Anastrozoltherapie	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
Anastrozol	40,89	19,05	35,89
Kein Anastrozol	40,91	45,99	37,55
<i>p-Wert</i>	0,889	0,370	0,815

Tabelle 12. Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin A im Kruskal-Wallis-Test für mehrere unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemo- therapie	Zwei Jahre nach Chemo- therapie
Körpergröße	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,179</i>	<i>0,470</i>	0,426
Gewicht	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,214</i>	<i>0,547</i>	<i>0,611</i>
Tumorgroße	Activin A 1	Activin A 2	Activin A 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,201</i>	<i>0,317</i>	<i>0,569</i>

7.4.5 Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin B

Tabelle 13 und 14 zeigen die nicht-signifikanten Ergebnisse von Activin B.

Tabelle 13. Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin B im Mann-Whitney-Test für zwei unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemotherapie	Zwei Jahre nach Chemotherapie
Patientinnenalter	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Alter <52 Jahre	50,37	38,25	27,63
Alter >52 Jahre	15,5	18,16	20,32
<i>p-Wert</i>	0,280	0,085	0,202
Menopausenstatus	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Prämenopausal	42,76	32,55	24,21
Postmenopausal	16,73	20,37	22,66
<i>p-Wert</i>	0,448	0,525	0,552
Amenorrhö	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Amenorrhö	33,39	28,91	25,07
Keine Amenorrhö	5,61	8,44	9,30
<i>p-Wert</i>	0,135	0,426	0,315
Chemotherapieschema	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
FEC-DG	48,32	30,01	23,56
FEC-DOC	18,81	24,77	23,45
<i>p-Wert</i>	0,518	0,632	0,391
Her2/neu-Status	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Her2/neu-positiv	18,26	25,21	17,72
Her2/neu-negativ	36,79	27,69	26,37
<i>p-Wert</i>	0,448	0,120	0,328
Trastuzumabtherapie	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Trastuzumab	13,67	16,16	11,77
Kein Trastuzumab	35,77	30,12	27,06
<i>p-Wert</i>	0,131	0,061	0,360
Hormonrezeptorstatus	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Hormonrezeptor positiv	37,45	29,19	19,18
Hormonrezeptor negativ	26,05	25,31	26,35
<i>p-Wert</i>	0,865	0,827	0,827
Tamoxifentherapie	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Tamoxifen	34,09	30,30	19,58
Kein Tamoxifen	29,55	25,82	24,68
<i>p-Wert</i>	0,725	0,570	0,808

Goserelintherapie	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Goserelin	50,35	33,60	26,03
Kein Goserelin	28,42	26,12	23,21
<i>p-Wert</i>	<i>0,483</i>	<i>0,971</i>	<i>0,689</i>
Anastrozoltherapie	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
Anastrozol	13,02	14,93	1,99
Kein Anastrozol	31,22	27,28	24,23
<i>p-Wert</i>	<i>0,889</i>	<i>0,815</i>	<i>0,074</i>

Tabelle 14. Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin B im Kruskal-Wallis-Test für mehrere unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemo- therapie	Zwei Jahre nach Chemo- therapie
Körpergröße	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,412</i>	<i>0,709</i>	<i>0,596</i>
Gewicht	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,340</i>	<i>0,419</i>	<i>0,411</i>
Tumorgroße	Activin B 1	Activin B 2	Activin B 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,262</i>	<i>0,347</i>	<i>0,583</i>

7.4.6 Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin AB

Tabelle 15 und 16 zeigen die nicht-signifikanten Ergebnisse von Activin AB.

Tabelle 15. Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin AB im Mann-Whitney-Test für zwei unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemotherapie	Zwei Jahre nach Chemotherapie
Patientinnenalter	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
Alter <52 Jahre	86,04	72,69	61,06
Alter >52 Jahre	90,29	87,06	94,46
<i>p-Wert</i>	0,583	0,685	0,943
Trastuzumabtherapie	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
Trastuzumab	39,40	33,75	60,36
Kein Trastuzumab	101,16	92,84	84,02
<i>p-Wert</i>	0,604	0,194	0,100
Hormonrezeptorstatus	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
Hormonrezeptor positiv	99,33	75,19	76,94
Hormonrezeptor negativ	80,66	84,45	80,46
<i>p-Wert</i>	0,544	1,000	0,577
Tamoxifentherapie	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
Tamoxifen	31,92	51,39	35,16
Kein Tamoxifen	106,35	89,92	93,55
<i>p-Wert</i>	0,081	0,685	0,341
Goserelintherapie	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
Goserelin	36,09	77,85	33,94
Kein Goserelin	94,42	80,94	84,35
<i>p-Wert</i>	0,437	0,799	0,351
Anastrozoltherapie	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
Anastrozol	31,48	21,55	34,60
Kein Anastrozol	90,42	82,73	80,59
<i>p-Wert</i>	0,815	0,741	0,889

Tabelle 16. Nicht-signifikante Ergebnisse von Activin AB im Kruskal-Wallis-Test für mehrere unabhängige Stichproben.

	Vor Chemotherapie	Vier Wochen nach Chemo- therapie	Zwei Jahre nach Chemo- therapie
Körpergröße	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,105</i>	<i>0,269</i>	<i>0,357</i>
Gewicht	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,307</i>	<i>0,430</i>	<i>0,470</i>
Tumorgroße	Activin AB 1	Activin AB 2	Activin AB 3
<i>p-Wert</i>	<i>0,607</i>	<i>0,585</i>	<i>0,591</i>

Vorabpublikationen

Burkhardt N, Jückstock J, Kuhn C, Rack B, Janni W, Schindlbeck C, Sommer H, Frieze K, Mylonas I.

Inhibin A is down-regulated during chemotherapy in patients with breast cancer.

Anticancer Res.2010 Nov; 30(11):4563-4566.

Danksagung und Widmung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Ioannis Mylonas vielmals für die Überlassung des Themas und die wertvolle Unterstützung und Beratung im Rahmen dieser Arbeit sowie die immunhistochemischen Bilder, die mir zur Verfügung gestellt wurden.

Ein großes Dankeschön geht an Frau Dr. med. Julia Jückstock für die ausgezeichnete Betreuung und Beratung bei allen Fragen.

Herrn Prof. Dr. med. Udo Jeschke danke ich für die große Hilfe im Labor und bei den Kongressen.

Ich danke Frau Christina Kuhn für die hervorragende Arbeit und unermüdliche Hilfe bei der Durchführung der experimentellen Untersuchungen, sowie Frau Irmgard Wiest, Frau Sandra Schulze und Frau Susanne Kunze, die mir immer mit Rat und Tat zu Seite standen.

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern Iris und Thomas Burkhardt, die mir das Medizinstudium ermöglicht und mich immer in jeglicher Hinsicht unterstützt haben.

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Natalie Lisa Burkhardt, erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

*„Vergleich der Serumkonzentrationen von Inhibin und Activin vor und nach adjuvanter
Chemotherapie bei Patientinnen mit Mammakarzinom“*

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)